

الفطريات الصناعية

تأليف

الأستاذ الدكتور

محمد عبد الرازق النواوي

دكتوراه من جامعة جوتنجن - ألمانيا الغربية

أستاذ التقنية الحيوية

كلية الزراعة جامعة عين شمس

الأستاذ الدكتور

محمد علي أحمد

دكتوراه من جامعة جوتنجن - ألمانيا الغربية

استاذ أمراض النبات

كلية الزراعة جامعة عين شمس

الطبعة الأولى

١٩٩٩

الدار العربية للنشر والوزيع

رقم الايداع ٩٩/١٥٧٤
الترقيم الدولي I.S.B.N
977- 258-137-

الفطريات الصناعية

الفطريات الصناعية

حقوق النشر محفوظة
لدار العربية للنشر والتوزيع
٣٢ شارع عباس العقاد - مدينة نصر
ت : ٢٧٥٣٣٣٥ فاكس : ٢٧٥٣٣٨٨

لا يجوز نشر أى جزء من هذا الكتاب ، أو اختزان مادته بطريقة الاسترجاع
أو نقله على أى وجه ، أو بأى طريقة ، سواء أكانت إلكترونية ، أو ميكانيكية ،
أو بالتصوير ، أو بالتسجيل ، أو بخلاف ذلك إلا بموافقة الناشر على هذا كتابة ،
ومقدما .

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

فَأَمَّا الزَّبَدُ فَيَذْهَبُ جُفَاءً وَأَمَّا مَا
يَنْفَعُ النَّاسَ فَيَمْكُثُ فِي الْأَرْضِ كَذَلِكَ
يَضْرِبُ اللَّهُ الْأَمْثَالَ ﴿١٧﴾ سُورَةُ الرَّحْمٰنِ

مقدمة الناشر

يتزايد الاهتمام باللغة العربية فى بلادنا يوماً بعد يوم. ولاشك أنه فى الغد القريب ستستعيد اللغة العربية هيبتها التى طالما أمتهنت وأذلت من أبنائها وغير أبنائها. ولا ريب فى أن إمتهان لغة أية أمة من الأمم هو إذلال ثقافى للأمة نفسها، الأمر الذى يتطلب تضافر جهود أبناء الأمة رجالاً ونساءً، طلاباً وطالبات، علماءً ومثقفين، مفكرين وسياسيين فى سبيل جعل لغة العروبة تحتل مكانتها اللائقة التى اعترف المجتمع الدولى بها لغة عمل فى منظمة الأمم المتحدة ومؤسساتها فى أنحاء العالم؛ لأنها لغة أمة ذات حضارة عريقة استوعبت - فيما مضى - علوم الأمم الأخرى، وصهرتها فى بوتقتها اللغوية والفكرية؛ فكانت لغة العلوم والأدب، ولغة الفكر والكتابة والمخاطبة.

إن الفضل فى التقدم العلمى الذى تنعم به أوروبا اليوم يرجع فى واقعه إلى الصحوة العلمية فى الترجمة التى عاشتها فى القرون الوسطى. فقد كان المرجع الوحيد للعلوم الطبية والعلمية والاجتماعية هو الكتب المترجمة عن العربية لابن سينا وابن الهيثم والفارابى وابن خلدون وغيرهم من عمالقة العرب. ولم ينكر الأوروبيون ذلك بل يسجل تاريخهم ما ترجموه عن حضارة الفراعنة والعرب والإغريق. وهذا يشهد بأن اللغة العربية كانت مطوعة للعلم والتدريس والتأليف، وإنها قادرة على التعبير عن متطلبات الحياة وما يستجد من علوم وإن غيرها ليس بأدق منها، ولا أقدر على التعبير.

ولكن ما أصاب الأمة من مصائب وجمود بدأ مع عصر الاستعمار التركى، ثم البريطانى والفرنسى، عاق اللغة من النمو والتطور، وأبعدها عن العلم والحضارة ولكن عندما أحس العرب بأن حياتهم لا بد من أن تتغير، وأن جمودهم لا بد أن تدب فيه الحياة، اندفع الرواد من اللغويين والأدباء، والعلماء فى إنماء اللغة وتطويرها، حتى أن مدرسة قصر العينى فى القاهرة، والجامعة الأمريكية فى بيروت درست الطّب بالعربية أول

إنشائهما. ولو تصفحنا الكتب التي ألفت أو تُرجمت يوم كان الطب يدرس فيهما باللغة العربية لوجدناها كتباً ممتازة لا تقل جودة عن أمثالها من كتب الغرب في ذلك الحين، سواء في الطبع، أو حسن التعبير، أو براعة الإيضاح، ولكن هذين المعهدين تنكرا للغة العربية فيما بعد، وسادت لغة المستعمر. وفُرضت على أبناء الأمة فرضاً، إذ رأى المستعمر في خنق اللغة العربية مجالاً لعرقلة تقدم الأمة العربية. وبالرغم من المقاومة العنيفة التي قابلها، إلا أنه كان بين المواطنين صنائع سبقوا الأجانب فيما يتطلع إليه، فتفننوا في أساليب التملق له اكتساباً لمرضاته، ورجال تأثروا بحملات المستعمر الظالمة، يشككون في قدرة اللغة العربية على استيعاب الحضارة الجديدة، وغاب عنهم ما قاله الحاكم الفرنسي لجيشه الزاحف إلى الجزائر: «علموا لغتنا وانشروها حتى نحكم الجزائر، فإذا حكمت لغتنا الجزائر، فقد حكمناها حقيقة».

فهل لى أن أوجه نداءً إلى جميع حكومات الدول العربية بأن تبادر - في أسرع وقت ممكن - إلى اتخاذ التدابير، والوسائل الكفيلة باستعمال اللغة العربية لغة تدريس في جميع مراحل التعليم العام، والمهني، والجامعي، مع العناية الكافية باللغات الأجنبية في مختلف مراحل التعليم لتكون وسيلة الاطلاع على تطور العلم والثقافة والانفتاح على العالم. وكلنا ثقة من إيمان العلماء والأساتذة بالتعريب. نظراً لأن إستعمال اللغة القومية في التدريس يسر على الطالب سرعة الفهم دون عائق لغوي، وبذلك تزداد حصيلته الدراسية، ويرتفع مستواه العلمي، وذلك يعتبر تأصيلاً للفكر العلمي في البلاد، وتمكيناً للغة القومية من الازدهار والقيام بدورها في التعبير عن حاجات المجتمع، وألفاظ ومصطلحات الحضارة والعلوم.

ولا يغيب عن حكوماتنا العربية أن حركة التعريب تسير متباطئة، أو تكاد تتوقف، بل تخارب أحياناً ممن يشغلون بعض الوظائف القيادية في سلك التعليم والجامعات، ممن ترك الاستعمار في نفوسهم عقداً وأمراضاً. رغم أنهم يعلمون أن جامعات إسرائيل قد ترجمت العلوم إلى اللغة العبرية، وعدد من يتخاطب بها في العالم لا يزيد على خمسة عشر مليون يهودياً، كما أنه من خلال زياراتي لبعض الدول واطلاعي وجدت كل أمة

من الأمم تدرس بلغتها القومية مختلف فروع العلوم والأدب والتقنية، كاليابان، وأسبانيا، ودول أمريكا اللاتينية، ولم تشكلك أمة من هذه الأمم فى قدرة لغتها على تغطية العلوم الحديثة، فهل أمة العرب أقل شأنًا من غيرها؟!

وأخيراً.. وتمشياً مع أهداف الدار العربية للنشر والتوزيع، وتحقيقاً لأغراضها فى تدعيم الإنتاج العلمى، وتشجيع العلماء والباحثين فى إعادة مناهج التفكير العلمى وطرائقه إلى رحاب لغتنا الشريفة، تقوم الدار بنشر هذا الكتاب المتميز الذى يعتبر واحداً من ضمن ما نشرته - وستقوم بنشره - الدار من الكتب العربية التى قام بتأليفها أو ترجمتها نخبة ممتازة من أساتذة الجامعات المصرية والعربية المختلفة.

وبهذا... ننفذ عهداً قطعناه على الماضى قدماً فيما أردناه من خدمة لغة الوحي. وفيما أراد الله تعالى لنا من جهاد فيها.

وقد صدق الله العظيم حينما قال فى كتابه الكريم

﴿ وقل اعملوا فسيرى الله عملكم ورسوله والمؤمنون، وستردون إلى عالم الغيب والشهادة فينبئكم بما كنتم تعملون ﴾.

«صدق الله العظيم»

محمد دريالة

الدار العربية للنشر والتوزيع

المحتويات

٢٥	مقدمة
٢٧	تمهيد
٢٨	١ - الفطريات فى حياة الإنسان البدائى
٣٠	٢ - الفطريات فى العصر الحديث
٣٦	٣ - دور الفطريات فى التقنية الحيوية
٤٠	٤ - تطور التقنية الحيوية للفطريات
٤٣	الباب الأول: الفطريات .. نشاطها وتركيبها
٤٥	١ - وحدة التركيب
٤٩	٢ - الوحدات التكاثرية
٥٤	٣ - الجدار الخلوى فى الفطريات
٥٩	الباب الثانى: الاحتياجات اللازمة لنمو الفطريات
٦١	١ - الاحتياجات الغذائية
٦٦	٢ - التهوية
٦٨	٣ - رقم الحموضة
٧٠	٤ - الضوء
٧١	٥ - درجة الحرارة
٧٤	٦ - احتياجات الرطوبة

٧٥	٧ - طبيعة النمو الفطري
٧٧	٨ - الظروف البيئية
٧٩	٩ - تأثير الفطريات الأخرى
٨٣	الباب الثالث: تغذية الفطريات في بيئتها الطبيعية
٨٥	١ - مقدمة
٨٧	٢ - تحليل المركبات المعقدة خاصة السيليلوز واللجنين
٩١	٣ - النواحي التطبيقية للأنظمة المحللة لللجنين
٩١	أ - إزالة اللجنين حيويًا
٩٢	ب - تبيض لباب الخشب
٩٢	ج - معالجة المياه المحتوية على مخلفات لجينية
٩٢	د - تحويل اللجنين إلى مواد كيميائية مفيدة
٩٢	٤ - استراتيجيات تغذية الفطريات في الطبيعة
٩٥	٥ - تباين التمثيل الغذائي للفطريات
٩٦	٦ - نمو الفطريات تحت ظروف انخفاض التغذية
٩٧	الباب الرابع: الفطريات كعوامل محللة حيويًا
١١١	الباب الخامس: التسمية الثنائية وأساسيات التصنيف
١١٣	١ - التسمية الثنائية للفطريات
١١٥	٢ - القواعد الدولية لتسمية الفطريات
١١٧	٣ - تصنيف الفطريات
	٤ - بعض الفطريات الصناعية الهامة
١٢٣	أ - الفطريات الهيفية:
١٢٣	* أنواع الجنس <i>Aspergillus</i>
١٢٦	* أنواع الجنس <i>Penicillium</i>

١٢٧	* أنواع الجنس <i>Trichoderma</i>
١٢٨	ب - فطر العفن الأبيض
١٢٨	ج - فطريات الخمائر
١٢٩	ء - فطريات عيش الغراب
١٣١	هـ - فطر الأرجوت
١٣٣	الباب السادس: المعالجة الوراثية للفطريات الصناعية
١٣٥	مقدمة
١٣٦	١ - الطفريات والمواد المطهرة
١٣٧	٢ - الأنظمة فوق الجنسية
١٣٩	٣ - نقل الصفات الوراثية
١٤٣	٤ - قدرة الخلايا على دمج الحمض النووي وإنتاج البروتينات
١٤٩	الباب السابع: التخمرات الصناعية
١٥١	أولاً: المواد المستخدمة في التخمرات الصناعية
١٥٢	١ - المواد الكربوهيدراتية
١٥٥	٢ - المواد النيتروجينية
١٥٧	٣ - المواد الإضافية
١٦١	ثانياً: تكنولوجيا التخمرات الصناعية
١٦٢	١ - تخمر البيئات السائلة
١٦٣	أ - المفاعل ذو الخزان القلاب
١٦٣	ب - وعاء التخمر البرجي
١٦٥	ج - التخمر السطحي
١٦٦	٢ - تخمر المواد الصلبة
١٦٧	٣ - نظام الخلايا الساكنة والمفاعل الغشائي

- ٤ - التسكين بالالتصاق والغشاء السطحي النمو ١٧٠
- ٥ - التحولات الحيوية باستخدام الجراثيم الفطرية ١٧٢
- ثالثاً: طرق التنمية والإنتاج ١٧٤
- ١ - الأنظمة المتبعة في توزيع الغازات ١٧٦
- أ - توزيع الغاز بالتقليب ١٧٦
- ب - توزيع الغاز بالطلمبات ١٧٦
- ج - توزيع الغاز باستخدام الهواء المضغوط ١٧٧
- د - توزيع الغاز بطريقة مستمرة ١٧٨
- ٢ - الصفات النموذجية لوعاء التخمر ١٧٨
- ٣ - مراحل التخمرات الفطرية ١٨١
- أ - مرحلة حفظ السلالة الفطرية ١٨١
- ب - مرحلة إعداد اللقاح (البادىء) ١٨٢
- ج - مرحلة الإعداد الأولي لبيئة التخمر ١٨٣
- د - مرحلة الإنتاج ١٨٣
- ٤ - تقنيات التنمية ١٨٤
- أ - التنمية على دفعات ١٨٥
- ب - التنمية على دفعات متزايدة ١٨٥
- ج - التنمية بالطريقة المستمرة ١٨٧
- رابعاً: طرق الحصول على المنتج النهائي ١٩١
- الباب الثامن: إنتاج المواد الكيمو حيوية بواسطة الفطريات ٢٠٣
- مقدمة: نواتج التمثيل الغذائي للفطريات ٢٠٥
- أولاً: إنتاج الأحماض العضوية ٢١٤
- ١ - إنتاج حمض الستريك ٢١٤

- أ - تركيب حمض الستريك ٢١٨
- ب - تخليق حمض الستريك ٢١٩
- ج - إنتاج حمض الستريك صناعيًا ٢٢٤
- * طريقة التخمر السطحي ٢٢٦
- * طريقة التخمر العميق ٢٣٠
- * طرق أخرى للإنتاج ٢٣١
- ء - العوامل المؤثرة على إنتاج حمض الستريك ٢٣٦
- * السلالات الفطرية ٢٣٦
- * رقم الحموضة ٢٣٧
- * درجة الحرارة ٢٣٧
- * تأثير مصدر الكربون ٢٣٧
- * تأثير مصدر النيتروجين والأملاح المعدنية ٢٣٨
- * تأثير العناصر الصغرى ٢٣٨
- ٢ - إنتاج حمض الجاليك ٢٣٨
- ٣ - إنتاج حمض الجلوكونيك ٢٣٩
- أ - طرق الإنتاج ٢٤١
- ب - إنتاج جلوكونات الكالسيوم ٢٤٢
- ج - إنتاج جلوكونات الصوديوم ٢٤٣
- ء - إنتاج دلتا جلوكونولاكتون ٢٤٤
- هـ - استخدامات حمض الجلوكونيك ومشتقاته ٢٤٤
- ٤ - إنتاج حمض الايتاكونيك ٢٤٥
- ٥ - إنتاج حمض الكوجيك ٢٤٩
- ٦ - إنتاج حمض الماليك ٢٥٠

- ٢٥١ ————— ٧ - إنتاج حمض الأسكوربيك
- ٢٥٣ ————— ثانياً: دور الخمائر في إنتاج الأحماض العضوية
- ٢٥٥ ————— ثالثاً: إنتاج الكحولات الصناعية
- ٢٥٥ ————— ١ - إنتاج كحول الإيثانول
- ٢٥٦ ————— أ - العوامل المؤثرة على الإنتاج
- ٢٥٦ ————— * اختيار سلالة الخميرة
- ٢٥٧ ————— * تجهيز مادة اللقاح (البادىء)
- ٢٥٧ ————— * المادة الخام المستخدمة
- ٢٥٨ ————— * إضافة عناصر غذائية
- ٢٥٨ ————— * رقم حموضة البيئة
- ٢٥٩ ————— * التهوية
- ٢٥٩ ————— * درجة الحرارة
- ٢٥٩ ————— * الوقت اللازم للتخمير
- ٢٥٩ ————— ب - آلية إنتاج كحول الإيثانول
- ٢٦٠ ————— ج - تنقية كحول الإيثانول
- ٢٦٠ ————— ع - الإنتاج الصناعى للإيثانول
- ٢٦٢ ————— ٢ - إنتاج الكحولات العديدة الهيدروكسيل
- ٢٦٧ ————— رابعاً: إنتاج السكريات المعقدة
- ٢٧٠ ————— خامساً: إنتاج الشيتوسان عن طريق التخمير
- ٢٧٢ ————— سادساً: إنتاج الإنزيمات الفطرية
- ٢٧٢ ————— ١ - أهمية الإنزيمات الفطرية
- ٢٧٨ ————— ٢ - الإنتاج التجاري للإنزيمات الفطرية
- ٢٧٨ ————— أ - إنزيمات الأميليز

٢٧٨	* إنزيم ألفا أميليز
٢٨١	* إنزيم بيتا أميليز
٢٨٢	* إنزيم جلوكو أميليز
٢٨٣	ب - الإنزيمات المحللة للروابط الجليكوزيدية ١ و ٦
٢٨٤	ج - إنزيمات تحليل البروتين
٢٨٤	* البروتيز القلوى
٢٨٥	* البروتيز المتعادل
٢٨٥	* البروتيز الحامضى
٢٨٦	* انزيم الرنين
٢٨٧	ء - إنزيمات تحليل البكتين
٢٩١	هـ - إنزيمات تحليل الدهون
٢٩٢	و - إنزيمات تحليل السيليلوز
٢٩٣	ز - إنزيمات أكسدة الجلوكوز
٢٩٣	ح - إنزيم تحليل اللاكتوز
٢٩٥	ط - إنزيم تحليل السكروز
٢٩٧	سابعاً: إنتاج الليبيدات والأحماض الدهنية
٣٠٢	ثامناً: إنتاج الجبرلينات
٣٠٢	١ - إنتاج الجبرلين وحمض الجبرليك
٣٠٥	٢ - إنتاج الزيرالينون
٣٠٧	تاسعاً: إنتاج الفيتامينات
٣٠٨	١ - إنتاج الريبوفلافين
٣١٠	٢ - إنتاج الكاروتينويدات

عاشراً: إنتاج الأحماض الأمينية	٣١٣
حادي عشر: إنتاج المحفزات الفطرية	٣١٥
ثاني عشر: إنتاج اللقاحات الفطرية القاتلة للحشرات	٣١٧
الباب التاسع: إنتاج الغذاء بواسطة الفطريات:	٣٢١
مقدمة	٣٢٣
أولاً: صناعة الخبز	٣٣٠
ثانياً: إنتاج الأغذية المتخمرة طبيعياً	٣٣٤
١ - مميزات الفطريات المستخدمة في التخمرات الطبيعية	٣٣٤
٢ - نماذج لبعض الأغذية المتخمرة	٣٣٦
أ - التمبي Tempe	٣٣٦
ب - الأونكوم Oncom	٣٤١
ج - صوص الصويا Soy souce	٣٤٣
د - عجائن الصويا المتخمرة	٣٤٧
ثالثاً: تصنيع الجبن	٣٥١
١ - الجبن المسواه داخلياً	٣٥١
٢ - الجبن المسواه سطحياً	٣٥٦
رابعاً: إنتاج الخمائر ومشتقاتها	٣٥٩
١ - الخمائر النشطة	٣٦٣
أ - خميرة الخباز	٣٦٣
ب - خميرة البيرة	٣٦٨
ج - خمائر المشروبات الكحولية المقطرة	٣٦٨
٢ - الخمائر غير النشطة	٣٦٩
٣ - مستخلص الخميرة	٣٦٩

- أ - التحلل الذاتى ٣٧٠
- ب - التحلل البلازمى (البلمة) ٣٧٠
- ج - التحلل المائى ٣٧١
- خامساً: إنتاج عيش الغراب ٣٧٤
- ١ - القيمة الغذائية لفطريات عيش الغراب ٣٧٥
- أ - الكربوهيدرات ٣٧٥
- ب - البروتينات ٣٧٦
- ج - الدهون ٣٧٨
- د - الأملاح المعدنية ٣٧٩
- هـ - الفيتامينات ٣٧٩
- و - الألياف ٣٨٠
- ز - الإنزيمات الهاضمة ٣٨٠
- ٢ - القيمة الطبية لفطريات عيش الغراب ٣٨٠
- ٣ - تاريخ زراعة عيش الغراب ٣٨٤
- ٤ - أهمية زراعة عيش الغراب فى دول العالم الثالث ٣٨٥
- ٥ - زراعة عيش الغراب العادى ٣٨٧
- أ - تجهيز الكومبوست ٣٨٨
- ب - تعبئة الكومبوست وإضافة التقاوى ٣٩٣
- ج - إضافة طبقة التغطية ٣٩٧
- د - تكوين الثمار وجمع المحصول ٣٩٧
- ٦ - زراعة عيش الغراب المحارى ٤٠٣
- أ - المخلفات العضوية المستخدمة فى الزراعة ٤٠٤
- ب - اختيار مكان الزراعة ٤٠٤

- ج - بسترة المادة العضوية ٤٠٥
- ء - الأوعية المستخدمة فى الزراعة ٤٠٦
- هـ - اضافة التقاوى ٤٠٦
- و - فترة التحضين ٤٠٧
- ز - تكوين الثمار ٤٠٧
- ٧ - زراعة أنواع أخرى من عيش الغراب ٤٠٨
- ٨ - مشاكل إنتاج عيش الغراب ٤٠٨
- ٩ - إنتاج علف غير تقليدى ٤٠٩
- ١٠ - الكمأة.. كنز الصحراء ٤١١
- سادساً: إنتاج مركبات النكهة ومكسبات الطعم والرائحة ٤١٣
- ١ - إنتاج النيوكليوتيدات ٤١٣
- ٢ - إنتاج التربينات ٤١٤
- ٣ - إنتاج المنتول ٤١٥
- ٤ - إنتاج اللاكتونات ٤١٧
- ٥ - استخدام الفطريات فى تحسين نكهة الأغذية ٤١٧
- سابعاً: إنتاج الصبغات ٤١٩
- ثامناً: إنتاج المشروبات الكحولية ٤٢٤
- ١ - المشروبات الكحولية غير المقطرة ٤٢٥
- أ - البيرة ٤٢٥
- ب - النبيذ ٤٣٤
- ج - الشمبانيا ٤٣٧
- ء - النبيذ المدعم ٤٣٨
- هـ - المشروبات الكحولية المصنعة من التفاح والكمثرى ٤٣٩

- ٢ - المشروبات الكحولية المقطرة ٤٤٠
- ١ - الروم ٤٤٠
- ب - الويسكى ٤٤٢
- الباب العاشر: دور الفطريات فى التقنية الحيوية الطبية ٤٤٧
- أولاً: انتاج المضادات الحيوية والمواد الأخرى المفيدة طبيًا ٤٤٩
- ١ - المضاد الحيوى بنسلين ٤٥٣
- أ - اكتشاف البنسلين ٤٥٣
- ب - تطوير إنتاج البنسلين ٤٥٦
- ج - الإنتاج التجارى للبنسلين ٤٦١
- ء - إنتاج بنزيل البنسلين ٤٦٨
- ٢ - المضادات الحيوية سيفالوسبورينات ٤٧٢
- ٣ - المضاد الحيوى جريسوفولفين ٤٧٦
- ٤ - المضادات الحيوية فيوسيدانات ٤٧٦
- ٥ - مضادات حيوية أخرى ٤٧٨
- ثانيًا: المواد المضادة للأورام وللفيروسات ٤٨٠
- ثالثًا: المواد المنظمة للمناعة ٤٨٦
- ١ - السيكلوسبورين ٤٨٦
- ٢ - الجليوتوكسين ٤٩٢
- رابعًا: قلويدات الأرجوت ٤٩٤
- ١ - لمحّة تاريخية ٤٩٤
- ٢ - المادة الفعالة ٤٩٩
- ٣ - الإنتاج التجارى ٥٠٢

- خامساً: الفطريات السامة
- ٥٠٦ ١ - السموم الفطرية المحللة لخلايا الجسم
- ٥٠٨ أ - الببتيدات الحلقية
- ٥٠٨ ب - الأوريلانين
- ٥٠٩ ج - الجيرومترين
- ٥٠٩ ٢ - السموم الفطرية المحللة لخلايا الدم
- ٥١٠ ٣ - سموم الكوبرين
- ٥١٠ ٤ - السموم الفطرية المؤثرة على العقل والإدراك
- ٥١١ أ - الموسكيمول وحمض الايبوتينيك والموسكازون
- ٥١١ ب - السموم الفطرية المحتوية على مجموعة الإندول
- ٥١٢ ج - الهوردنين والتيرامين و ن - مثيل تيرامين
- ٥١٣ ٤ - سموم المسكارين
- ٥١٤ ٥ - حالات أخرى من التسمم العيش غرابي
- ٥١٤ سادساً: سموم الأفلاتوكسينات
- ٥١٦ ١ - لمحة تاريخية
- ٥١٦ ٢ - تركيب الأفلاتوكسينات
- ٥١٧ ٣ - إنتاج الأفلاتوكسينات
- ٥١٩ ٤ -سمية الأفلاتوكسينات
- ٥٢٠ سابعاً: التحولات الستيرويدية الفطرية
- ٥٢٥ ثامناً: التحولات الحيوية للمركبات الأخرى الفعالة علاجياً
- ٥٣٣ تاسعاً: الاستخدامات الطبية للإنزيمات الفطرية
- ٥٣٤ عاشراً: القيمة الطبية للفطريات الراقية
- ٥٣٦ حادى عشر: بعض الاستخدامات الطبية المتنوعة للفطريات
- ٥٣٨

- الباب الحادى عشر : بعض الاستخدامات الصناعية الحديثة للفطريات — ٥٤٣
- ١ - استخدام فطريات العفن الابيض فى صناعة الورق — ٥٤٣
- ٢ - إسالة الفحم — ٥٤٩
- ٣ - تحول المركبات اللجنوسيليلوزية إلى غازات — ٥٥٥
- ٤ - استعمال الخمائر فى إزالة البارافينات والشموع — ٥٥٥
- ٥ - دور الفطريات فى التقنية الحيوية للمعادن — ٥٥٧
- ٦ - إنتاج الأنسجة الفطرية الحديثة — ٥٦٢
- ٧ - الفطريات ومستقبل البشرية — ٥٦٤
- الباب الثانى عشر: حفظ المزارع الفطرية — ٥٦٩
- مقدمة — ٥٧١
- ١ - إنماء المزارع الفطرية — ٥٧٢
- أ - درجة الحرارة — ٥٧٢
- ب - الضوء — ٥٧٣
- ج - النشاط المائى — ٥٧٣
- د - البيئات الغذائية — ٥٧٣
- هـ - رقم الحموضة — ٥٧٤
- و - الأكسوجين — ٥٧٤
- ٢ - طرق إنماء المزارع الفطرية — ٥٧٥
- أ - انماء القطر — ٥٧٥
- ب - مشاكل تكرار إنماء المزارع الفطرية — ٥٧٥
- ٣ - طرق حفظ المزارع الفطرية — ٥٧٦
- أ - التخزين المبرد — ٥٧٦
- ب - التخزين تحت سطح الزيت — ٥٧٦

- ج - وقف التمثيل الغذائي ٥٧٧ _____
- * التجفيد ٥٧٧ _____
- * التجמיד ٥٧٨ _____
- هـ - طرق أخرى لحفظ المزارع الفطرية ٥٨٠ _____
- * مزارع التربة ٥٨٠ _____
- * مزارع السليكاجيل ٥٨١ _____
- * الحفظ في الماء ٥٨٢ _____
- ٤ - الأكاروسات الملتزمة للفطريات ٥٨٣ _____
- ٥ - تسجيل بيانات المزارع الفطرية ٥٨٧ _____
- ٦ - بنوك المزارع الفطرية ٥٨٧ _____
- ٧ - تركيب بعض البيئات الغذائية المستعملة في إنماء الفطريات ٥٨٩ _____
- ملحق (١): المراجع ٥٩٥ _____
- ملحق (٢): أمثلة لبعض الفطريات المستخدمة في إنتاج بعض
المنتجات ذات الأهمية الصناعية ٦٠٠ _____
- ملحق (٣): ملزمة ملونة ٦٠٧ _____

مقدمة

يهدف هذا الكتاب إلى توفير مادة علمية متكاملة عن الاستخدامات التطبيقية للفطريات والخمائر في التقنية الحيوية الحديثة؛ ففي الماضي، اقتصر استخدام الفطريات على بعض التخميرات الصناعية التي ينتج منها مضادات حيوية، وأحماض عضوية، وكحولات، وغيرها من المواد الكيميائية الحيوية. أما الآن، فلقد زادت مجالات استخدام الفطريات في نواحي الحياة المختلفة؛ وذلك يشمل المجالات الزراعية والصناعية والطبية، بالإضافة إلى حماية البيئة من التلوث.

وعادةً ما يعتقد بعض دارسي الفطريات أن هذه الكائنات الحية الدقيقة ضارة على وجه العموم؛ وذلك لما تسببه من عفنٍ لغذاء الإنسان وممتلكاته، وأمراضٍ له ولنباتاته وحيواناته؛ متجاهلين ذلك الدور الهام الذي تلعبه هذه الفطريات في اقتصاديات الإنسان.

وربما - من خلال هذا الكتاب - يتضح لأبنائنا الدراسين مدى عظم الدور الذي تلعبه الفطريات في حياتنا المعاصرة، وماتمثلة لمستقبل البشرية ونحن على أعتاب القرن الحادى والعشرين؛ وذلك من خلال مشتقات نواتج التمثيل الغذائي لها، والتي اكتُشف بعضاً منها؛ فغير ذلك وجه التاريخ، وما زال الكثير ينتظر كشف النقاب عنه.

وليس هناك مجال للشك في أن دراستنا للتقنية الحيوية للفطريات سوف تزيح الستار عن ذلك الدور الهام الذي تقوم به الفطريات دون أن نفطن نحن إلى ذلك، فإذا استطعنا أن نكشف بعضاً من هذه النواحي الحيوية لهذه الكائنات الحية النشيطة، كان

فى ذلك العون العظيم لتحسين سبل حياتنا، وتنقية البيئة التى نعيش فيها، والتى عملنا على تلويثها دون أن ندرى أو نقصد.

كما أن دراستنا لهذه الفطريات سوف تساعدنا على الاستفادة منها فى تصنيع أنواع من الأغذية لم نكن نألفها من قبل، وفى تحسين قيمة وطعم أغذية أخرى مألوفة لنا، بالإضافة إلى الاستفادة من هذا النشاط الحيوى للفطريات فى إنتاج بعض العقاقير الطبية التى قد تكون علاجاً شافياً - بإذن الله - من أمراض العصر، والتى لانعلم لها علاجاً حتى الآن.

المؤلفان

تمهيد

تعتبر الفطريات أحد المكونات الحيوية الهامة للنظام البيئي ؛ حيث تنتشر في عديد من البيئات الطبيعية؛ متغذية على المواد العضوية والمخلفات النباتية والحيوانية؛ وتلعب خلال ذلك دوراً هاماً في إعادة تدوير الكربون والعناصر الغذائية الأخرى. ويقدر حجم ماتقوم الفطريات بإعادة تدويره بعدة ملايين من الأطنان من المواد العضوية سنوياً ؛ حيث تتوقف حياة الكائنات الحية الأخرى على ماتوفره الفطريات من عناصر أولية.

وتتداخل الفطريات في عديد من الأنشطة الإنسانية؛ مؤثرة في إنتاجه الإقتصادي؛ سواء إيجابياً أم سلبياً؛ فهي تسبب عديداً من الأمراض الخطيرة؛ سواء للنبات أم للحيوان ؛ وهذا يؤثر تأثيراً بالغاً في غذاء الإنسان. ولايتوقف مهاجمة الفطريات للمحاصيل المزروعة، ولكنها تهاجم أيضاً الحبوب المخزونة ، وتسبب تدهورها وتلوثها بمواد سامة ذات تأثيرات مسرطنة.

ولقد تغيرت نظرة العالم إلى الفطريات منذ أن اكتشف المضاد الحيوى بنسلين، وماتبعه من إنقاذ أرواح كثير من البشر خلال الحرب العالمية الثانية، أو على الأقل أنقذ أطرافهم من البتر. ومنذ ذلك الحين وضعت الفطريات في مكانها اللائق بها.

وهناك عديد من الفطريات الأخرى التي استفاد منها الإنسان منذ نشأته الأولى، حين تعلم كيف يصنع خبزاً جيد التخمر، وجعةً ونبذاً دون أن يدري شيئاً عن الفطريات والتخميرات. ومنذ ذلك الحين تستعمل الفطريات في صناعة أنواع لاحصر لها من الأطعمة والمشروبات التي تعتمد على الفطريات في إنتاجها.

كما تستعمل الفطريات فى إنتاج الأحماض العضوية والكحولات ذات الاستعمالات الصناعية، بالإضافة إلى عديد من المركبات الهامة ذات الفوائد الطبية. ولقد اختيرت بعض أنواع الفطريات كنموذج للكائنات الحية ذات النواة الحقيقية فى الدراسات الخاصة بالهندسة الوراثية والوراثة الجزيئية والكيمياء الحيوية؛ نظراً لسهولة دورة حياتها وسهولة تنميتها؛ بالمقارنة بالكائنات الحية الأخرى ذات النواة الحقيقية؛ كالنباتات، والحيوانات.

١ - الفطريات فى حياة الإنسان البدائى :

يمكننا أن نتوقع أن أسلافنا من البشر قد استخدموا الفطريات كغذاء، وربما أيضاً فى أغراض أخرى عديدة؛ وذلك منذ بداية عهد الحضارة الإنسانية. ومن المحتمل أن يكون الإنسان البدائى قد جمع ثماراً من عيش الغراب، وجدّ فى البحث عنها بعد أن استطاب طعمها؛ كما نفعل نحن الآن . وليس من المستبعد أن يكون هناك بعض الضحايا الذين سقطوا شهداء التجربة والخطأ، بعد تناولهم لأحد ثمار عيش الغراب السامة.

ولعل أول من سجل استخدام فطريات عيش الغراب كطعام للإنسان هم اليونانيون والرومان ، وكان أقدم رسم لهذه الفطريات ماسجله الرومان فى مدينتهم «بومباى»؛ التى دمرت بفعل ثورة بركانية عام ٧٩ بعد الميلاد.

وكان أول من ذكر شيئاً عن الأنواع المأكولة من فطريات عيش الغراب هو الفيلسوف اليونانى Euripides ؛ وذلك خلال الفترة من ٤٥٦ - ٤٥٠ قبل الميلاد، كما أن عالم النبات Pliny شك فى أن تكون فطريات عيش الغراب ضمن الكائنات الحية!.

كما ساد الاعتقاد بين أهالى الرومان القدماء قبل ميلاد السيد المسيح - عليه السلام - بنحو ثلاثة قرون، أن الكمأة - وهى نوع من الفطريات الأسكية ذات الثمار تحت الأرضية المأكولة - تنشأ من البرق الذى ينطلق فى السماء بقوة الإله «جوبيتر»

كبير آلهتهم؛ الذى يرسل سهامه المشتعلة إلى الأرض ؛ فتظهر هذه الثمار العظيمة فى قيمتها الغذائية.

وعرف فراعنة مصر القدماء صناعة الخبز والجمعة، وكانوا يعتقدون أن ذلك التخمر إنما هو منحة من الإله الأكبر أوزيريس، ثم أظهر العلم الحديث - بعد ذلك بالآف السنين - دور فطريات الخميرة فى هذه العملية الهامة.

ولقد استعملت بعض ثمار فطريات عيش الغراب الرفية فى العلاج منذ العصر الحجرى؛ حيث اكتُشِفَ فى رواسب الثلج المنصهر بجبال الألب قطع من ثمار فطر رففى يُعتقد أنه للفطر *Piptoporus betulinus* فى جرابٍ جلديٍّ لأحد صيادى الحيوانات ، وُجِدَ مدفوناً، وظل على حالته مجمداً فى الثلج منذ نحو ٥٢٠٠ سنة تقريباً.

وفى ذلك العهد السحيق ، استعملت جراثيم الكرات النافخة *puffbals* كمادة موقفة للنزيف ؛ حيث وُجِدَت كميات كبيرة من هذه الجراثيم محفوظة داخل قوارير صغيرة فى فجوات متباعدة على طول السور الذى بناه القيصر الرومانى هارديان (١١٧ - ١٣٨ م) ؛ لتأمين حدود مملكته. ولقد استمر استعمال جراثيم الكرات النافخة فى تضميد الجروح حتى الحرب العالمية الأولى؛ وذلك عندما كان الحصول على ضمادة طبية عزيز المنال.

ولعبت فطريات عيش الغراب دوراً هاماً فى حياة شعب اليوروبا *Yoruba* ؛ وهو شعب زنجى يقيم فى ساحل أفريقيا الغربى بين داهومى والنيجر، وتعتبر ثمار عيش الغراب من مصادر الغذاء التقليدية لهذا الشعب؛ وهم يستعملون أنواعاً منها فى علاج عديد من الأمراض، وأيضاً فى التكهن والاختفاء عن الأعداء وقت الحرب. كما يعجنون الأنواع السامة من فطريات عيش الغراب مع الصمغ، ويجهزون بها سهامهم المسمومة.

وفى الهند يعتقد أتباع العقيدة الهندوسية فى إله يُدعى *Soma*، والذى يظهر

بجسمه لأتباعه من خلال تناولهم لثمار بعض أنواع فطريات عيش الغراب المؤثرة في العقل والإدراك، قد تكون تابعة لفطر عيش غراب الذبابة *Amanita muscaria*. ولقد قدسَ هنود المكسيك هذا الفطر أيضاً ، واستعملوه خلال طقوسهم الوثنية، وأطلقوا عليه اسم Soma . واستخدموا اسم هذا الإله في التراتيل التي كانوا ينشدونها بعد تناولهم ثمار عيش غراب الذبابة.

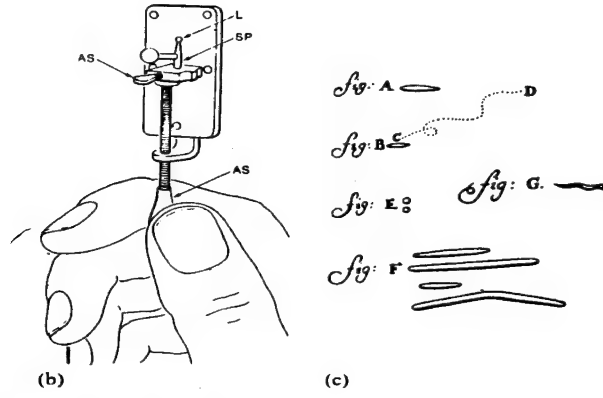
٢- الفطريات في العصر الحديث :

يعود الفضل في كشف النقاب عن عالم الأحياء الدقيقة – بما فيه الفطريات – إلى اختراع المجهر بواسطة العالم الهولندي ليفنهوك Antony van Leeuwenhock عام ١٦٧٣.

ولقد تنبأ كثيرون بوجود الأحياء الدقيقة دون أن يشاهدوها ؛ ففي القرن الثالث عشر، افترض باكون Roger Bacon أن الأمراض تنتج عن مسببات حية غير مرئية. وكان ذلك رأى الكثيرين؛ مثل: فيرونا F.Verona من علماء القرن السادس عشر، ولانسيز من علماء القرن الثامن عشر.

وعلى الرغم من بدائية المجاهر التي صنعها ليفنهوك – والتي تصل إلى ٢٥٠ نظاماً مجهرياً مختلفاً – إلا أنها كانت كافية لفحص التراكيب الفطرية، والتعرف على ذلك العالم المجهول الذي لم يره بشر من قبل هذا العالم العظيم.

وفي عام ١٧٢٩ قام عالم النبات الإيطالي ميشيلي Pietro Antonio Micheli بتنمية جراثيم الفطريات على بيئات غذائية طبيعية تم تجهيزها من أوراق الأشجار وثمارها؛ حيث لاحظ «ميشيلي» أنه عند إنبات هذه الجراثيم فإنها تعطي نفس نموات الفطر، والتي تحمل – بعد ذلك – نفس الجراثيم. ولقد قام هذا العالم بفحص التراكيب الفطرية المختلفة، واعتنى بالتفاصيل؛ حيث وصف حوالي ٩٠٠ فطرٍ مختلفٍ.



شكل (١) كيفية استعمال مجهر ليفتهوك، البسيط في الفحص، وأيضاً يظهر حجم المجهر بالنسبة إلى أصابع اليد.

(L) عدسة مكبرة مثبتة بين صفيحتين رافقتين من المعدن.

(P) عمود معدني للفحص. يتحرك عن طريق مسمار لولبي (AS).

يتم الفحص عن طريق حمل المجهر وتكريبه من العين، مع وضع مصدر ضوئي في الجهة المقابلة للعدسة. ويوضح الرسم بعض أشكال البكتيريا التي رسمها العالم الهولندي ، ليفتهوك ، ، وتشمل أشكالاً عصوية وكروية وحلزونية.

ولعل المرحلة الثانية في علم الفطريات هي ما قدمه الأخوان الفرنسيان Charles and Louis - Rene Tulanase ؛ حيث لاحظا أن الفطر الواحد يمكنه تكوين أكثر من نوع واحد من الجراثيم. ولقد ساعد ذلك على تنقية الفطريات ودراساتها ، وإيضاح دورة حياتها، وطبيعة نموها.

ولقد أصدر العالمان الفرنسيان السابقان كتاباً تضمن نتائج أبحاثهما عن الفطريات بعنوان *Selecta Fungorum Carpologia* ؛ وذلك في الفترة من ١٨٦١ - ١٨٦٥ . ويعتبر هذا المؤلف عن الفطريات من الأعمال العظيمة في هذا المجال، وكان يتألف من ثلاثة أجزاء، ويضم أشكالاً مختلفة عن الفطريات وتراكيبها.

وكان أول من سجل شيئاً عن أنوية الفطريات هو العالم الألماني دى بارى Anton De Bary ؛ حيث كان ذلك فى أول كتاب عن الفطريات صدر فى ألمانيا عام ١٨٦٦ ؛ وأدى ذلك إلى فتح الباب أمام العلماء لدراسة الأنوية الفطرية وفهم دورة حياتها، والتي شملت عديداً من أنواع الفطريات.

ولقد تطورت تقنية المزارع النقية للفطريات فى نهاية القرن التاسع عشر، وأصبح الأوتوكلاف متاحاً فى جميع معامل الفطريات عام ١٨٨٠، وفى الوقت نفسه تم اكتشاف الآجار، واستعمل فى صناعة البيئات الغذائية الصلبة المستعملة فى تنمية الفطريات فى المعمل.

ومن أول الدراسات التى أجريت لإنماء الفطريات فى مزارع نقية ما أجراه رولاين Jules Raulin ؛ وهو أحد تلامذة العالم الفرنسى باستير (1822- Louis Pasteur 1895). ودرس رولاين الاحتياجات الغذائية للفطر *Aspergillus niger*؛ مما سهل من تنقية الفطريات. وأتاح ذلك إمكانية إجراء تجارب فسيولوجية على الفطريات، وكان أول من قام بمثل هذه الدراسات هو العالم الألماني كلبس Georg Klebs ؛ الذى نشر أبحاثه خلال الفترة من ١٨٩٦ - ١٩٠٠.

ومن ناحية أخرى اهتم كثير من الباحثين بتصنيف الفطريات؛ حيث بدأ هذا العلم بما قدمه العالم السويدى لينيس 1778 - 1707 Carl von Linne (Linnaeus) ؛ والذى ابتكر التسمية الثنائية للأحياء.

وعلى الرغم من المجهودات العلمية الرائعة التى أسهم بها «لينيس» فى وضع دعائم التسمية العلمية للأحياء، إلا أنه خافه التوفيق فى تسمية بعض الفطريات، بل واعتبر بعضها ديداناً. وعلى أية حال، فإن التصنيف الحديث للفطريات يرجع إلى الباحثين بيرسون C.H. Persoon - من جنوب أفريقيا - وفريس Elias Fries - من السويد - حيث وضعا مبادئ هذا العلم على أساس سليح.

وظهر للعالمين السابقين مؤلفات عن تصنيف الفطريات مزودة برسومات توضيحية؛ حيث أصدر «بيرسون» كتاباً عام ١٨٠١ بعنوان "Synopsis Methodica Fungorum" ، وبعد ذلك بعدة أعوام أصدر «فريس» كتاباً بعنوان Systema Mycologicum في عام ١٨٢١ ، ثم أصدر طبعةً جديدةً ؛ تضمنت أبحاثاً لأنواع أخرى من الفطريات عام ١٨٣٢ .

وهكذا قدم الباحثان السابقان صورةً حديثةً واقعيةً عن تصنيف الفطريات، ووضعها بين الكائنات الحية الأخرى، في الوقت الذي سادت فيه نظرية التوالد الذاتي بين علماء ذلك العصر، وكانت الفطريات مازالت كائنات غامضةً يحيطها كثير من الشكوك.

ونشر عالم الطبيعة الإنجليزي دارون (1809 - 1882) Charles Darwin كتابه : «أصل الأنواع Origin of the Species» عام ١٨٥٩ ؛ موضحاً فيه نظريته عن تطور الأحياء بعضها من بعض، وألقت هذه النظرية حجراً في مياه العلم الساكنة، وأصبح التطور شيئاً منطقيّاً. وفي أعقاب ذلك ، قدم دى بارى Anton De Bary عام ١٨٦٦ نظاماً تقسيمياً للأحياء الدقيقة يتضمن تطورها ؛ مسترشداً بأراء دارون.

وفي منتصف القرن العشرين بدأت الدراسات الوراثة للفطريات، وفحصت الجينات بواسطة المجهر الإلكتروني، واقترح النموذج الحلزوني المزدوج الملتف للحمض النووي DNA . وأثر ذلك في مفهوم علماء العصر الحديث عن الفطريات، وساعدهم على وضع أفرادها في مكانهم التصنيفي الحقيقي، ثم تطورت هذه الدراسات في اتجاه الهندسة الوراثية والبيولوجية الجزيئية.

والآن .. ونحن في نهاية القرن العشرين، وعلى أعتاب القرن الواحد والعشرين، ينغمس علماء الفطريات في دراسة النواحي التطبيقية لها، ربما في محاولات مستمرة لإعادة اكتشافها، والتعرف على قدراتها بما يفيد الإنسانية ويعود عليها بالخير الوفير.

جدول (١) : أهم الأحداث التي أدت إلى تطور مفهومنا عن الفطريات .

عام	الحدث
١٦٠٠-١٥٩٠	محاولات اختراع المجهر الضوئي العادي
١٦٦٥	استعمل العالم الانجليزي R.Hooke المجهر في فحص الفطريات ورسم أشكال لبعض تراكيبها.
١٦٧٣	فحص العالم الهولندي Leeuwenhoek فطر الخميرة تحت المجهر ورسمه.
١٦٩٩	أوضح R.Morison أن الفطريات أحد مكونات الأشنيات Lichens
١٧٢٩	كتب P.A.Micheli تقارير علمية عن تجارب أجراها حول إنبات جراثيم الفطريات والحصول على مزارع نقية منها.
١٧٥٣	اتباع C.Linnaeus نظام التسمية الثنائية في تسمية الأحياء؛ بما فيها الفطريات.
١٧٦٧	أثبت F.Fontana أن الفطريات يمكنها إحداث أمراض للنبات،
١٨٠١	نشر C.H.Persoon كتاباً عن تصنيف الفطريات.
١٨٢١-١٨٣٢	نشر E.Fries عدة كتب عن تصنيف الفطريات.
١٨٣١	اكتشف R.Brown النواة في خلايا النبات.
١٨٣٤-١٨٣٧	نجاح مجموعة من الأبحاث التي أوضحت الطبيعة الحيوية للتخمرات.
١٨٣٥-١٨٣٦	أثبت A.Bassi أن الفطريات يمكنها إحداث أمراض للحشرات.
١٨٣٨-١٨٣٩	قدم M.J.Schleiden و T.Schwann نظرية الخلية.
١٨٤٤	أثبت D.Gruby أن الفطريات يمكنها إحداث أمراض للإنسان
١٨٦٦	نشر A.De Bary كتاباً عن الفطريات، أوضح فيه وجود النواة داخل هيفات الفطريات.
١٨٦٧	وصف كل من L.R Tulasne & C.Tulasne التكاثر في الفطريات.

عام	الحدث
١٨٧٣	أثبت C.H.Blackley أن الفطريات يمكنها التسبب في أمراض الحساسية في الإنسان.
١٨٧٣	أوضح J.Reinke أن الفطريات تكون علاقة مع جذور النباتات الراقية يتبادلان فيها المنفعة، وأطلق عليها اسم «الجذور الفطرية mycorrhizae».
١٨٧٦	درس العالم الفرنسي L.Pasteur دور الأحياء الدقيقة في صناعة الجعة (البيرة)؛ مثبتاً خطأ نظرية التوالد الذاتي التي كانت شائعة بين أوساط المثقفين حتى الثلث الأخير من القرن التاسع عشر.
١٨٧٩	نشر أول مجلة علمية متخصصة في أبحاث الفطريات تحت اسم Revue mycologique في فرنسا.
١٨٩٨-١٩٠٠	أجرى G.Klebs أول تجارب فسيولوجية لإنماء الفطريات ودراسة احتياجاتها الغذائية.
١٩٠٠	إعادة اكتشاف قوانين مندل الوراثة.
١٩٠٦	وصف A.F.Blakeslee الأسس الوراثة للتكاثر الجنسي.
١٩٢٩	اكتشف A.Fleming المضاد الحيوى بنسلين.
١٩٣١	تأسيس الجمعية الأمريكية لعلم الفطريات Mycological Society of America.
١٩٤١	وصف كل من G.Beadle و E.L.Tatum كيفية تحكم الجينات في التفاعلات الكيموحيوية في الفطريات.
١٩٤٥	عمل كل من G.Beadle و E.L.Tatum على حث العزلات الفطرية لعمل طفرات جديدة، والاستفادة من السلالات الناتجة.
١٩٥٢	سجل I.Manton وزملاؤه مشاهداتهم للفطريات باستعمال المجهر الإلكتروني.
١٩٥٣	إقترح J.D.Watson و F.H.Crick النموذج الحلزوني لتركيب الحمض النووي DNA.

٣- دور الفطريات في التقنية الحيوية :

لقد ساد الدور الذى لعبته الفطريات فى المجتمعات البشرية منذ نشأة حضارة الإنسان إلى يومنا هذا، إلى درجة أنه يمكن القول بأن الفطريات هى أكثر الكائنات الحية الدقيقة التى استفاد منها الإنسان عبر تاريخه الطويل.

وشملت الاستخدامات التقليدية للفطريات لإنتاج غذاء للإنسان وإكسابه طعماً ونكهة جيدة. وكذلك الإنتاج الحيوى لبعض المواد الكيميائية؛ مثل حمض الستريك والمضادات الحيوية كالبنسلين . كما استخدمت فطريات الخميرة فى المجتمعات البشرية القديمة؛ وذلك فى تجهيز الخبز، وإنتاج المشروبات الكحولية، دون أن يفطن الإنسان - حينذاك - إلى دور الفطريات فى إحداث التخمير.

واستُخدمت الفطريات الهيفية - أيضاً - لتسوية بعض أنواع الجبن وتحسين نكهتها، كما استعملت أنواع أخرى من هذه الفطريات فى آسيا لتجهيز بعض الأغذية الشعبية هناك ؛ مثل السوفو *Sufu* والتمبي *Tempeh* ، وكذلك الميسو *Miso* الذى يستعمل - عادةً - كفاتح للشهية.

ومن ناحية أخرى، تعتبر زراعة عيش الغراب من الطرق الشائعة فى جميع أنحاء العالم لإنتاج غذاء بروتينى من الفطريات ؛ حيث بدأ الإنسان فى الاعتماد عليها كمصدر هام لغذائه منذ فجر التاريخ. وتعتبر زراعة عيش الغراب من المشروعات العملاقة العالية القيمة الاقتصادية فى أوروبا والولايات المتحدة، بينما تعتبر مصر حديثة العهد فى هذا المجال الذى بدأ تجارياً فى منتصف الثمانينات من هذا القرن.

وينحصر الإنتاج التجارى لفطريات عيش الغراب بأوروبا والولايات المتحدة فى زراعة عيش الغراب العادى *Agaricus bisporus*، وبعض الأنواع الأخرى الوثيقة الصلة به، بينما يمثل إنتاج فطر عيش الغراب المحارى *Pleurotus ostreatus* نسبةً محدودةً من إجمالى الإنتاج العالمى. إلا أن فطر عيش الغراب المحارى يزرع بوفرة فى دول شرق آسيا، وفى مصر، وبعض الدول العربية الأخرى ؛ لسهولة زراعته وقبوله كغذاء بروتينى معتدل السعر فى مثل هذه الدول.

ومن التطبيقات العملية الحديثة لاستعمال الفطريات فى الصناعات الغذائية ، إنتاج المواد المكسبة للطعم والرائحة (المنكهات) ، والمواد الملونة (الصبغات) ، بالإضافة إلى إنتاج المواد البروتينية التى تستعمل فى إنتاج أغذية بروتينية خالية من اللحم ، والتى يطلق عليها اسم «البروتين الفطرى mycoprotein» .

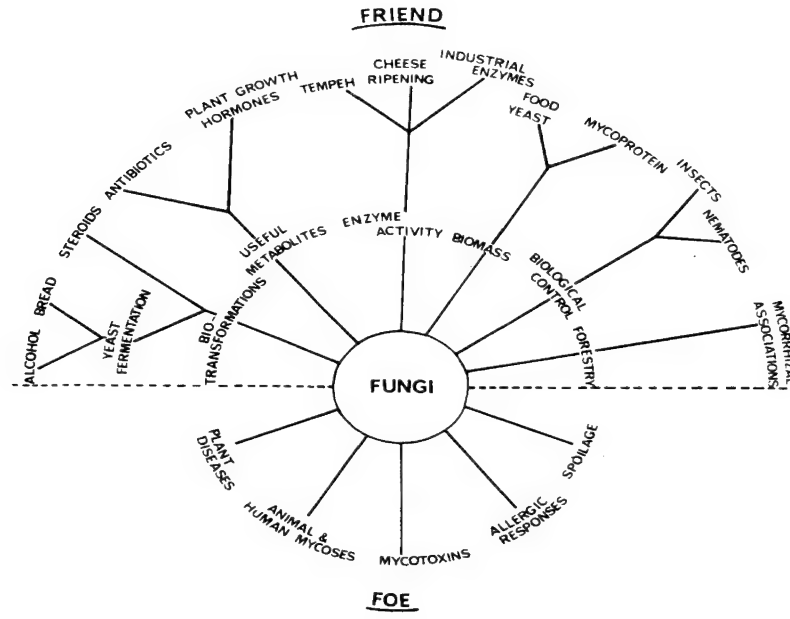
ويعتبر الكورن Quorn أفضل مثال يمكن أن نشير إليه للأغذية البروتينية ذات المنشأ الفطرى ، والتى تتميز بمذاق اللحم ورائحته ، إلا أنها منخفضة الطاقة ، وخالية من الكوليسترول ؛ لذلك تعتبر أحد الأغذية الصحية التى يمكن التوصية بها للباحثين من أجل الرشاقة .

ومن النواحي الاقتصادية الهامة الأخرى للفطريات ، استخدامها فى الصناعة لإنتاج مواد كيميائية حيوية ؛ ومثال ذلك الأحماض العضوية ؛ كالستريك citric ، والفيوماريك fumaric ، واللاكتيك lactic ، والإيتاكونيك itaconic ، وأيضاً تخليق بعض الهورمونات الفطرية كالجبرلينات gibberellins .

وبالإضافة إلى ماسبق ، تنتج بعض الفطريات مضادات حيوية ؛ مثل البنسلين الذى أمكن بعد ذلك إنتاجه صناعياً فيما يسمى بـ «البنسلين نصف المخلوق semisynthetic penicillin» . ولقد لعب اكتشاف البنسلين دوراً هاماً وحاسماً خلال معارك الحرب العالمية الثانية ؛ حيث أنقذ أرواح كثير من البشر ، أو - على الأقل - أنقذ أطرافهم من البتر .

ومن المواد الحيوية الأخرى التى تنتجها الفطريات - التى تم اكتشافها مؤخراً - تلك المواد المضادة للتورمات antitumour agents ، والمواد الشبيهة بالسيكلوسبورين المعدلة لمناعة الجسم immunomodulators - like cyclosporin ؛ وقد ظهرت أهميتها فى عمليات نقل الأعضاء البشرية .

كما تستخدم بعض الفطريات الهيفية وفطريات الخمائر فى تحويل أو تعديل تركيب بعض المركبات الحيوية الهامة ذات الاستخدامات الطبية ؛ مثل مادة الكورتيزون corti- sone ؛ حيث يستخدم لهذا الغرض فطريات معدلة وراثياً .



شكل (٢) : بعض أنشطة الفطريات المؤثرة في حياة الإنسان (عن Moss , 1987)

ولقد تطورت وسائل استخدام الفطريات فى المجالات الزراعية المختلفة، وفى حماية البيئة من التلوث؛ فيما يسمى بـ «التقنية الحيوية البيئية - **environmental biotechnology**». وكذلك أمكن استخدام أنواع عديدة من الفطريات فى التقنية الحيوية الصناعية **industrial biotechnology**، هذا .. بالإضافة إلى تلك الاستخدامات التقليدية لاستخدام الفطريات فى الصناعات المعتمدة على التخمرات.

ولقد أظهرت الأبحاث الحديثة إمكانية استخدام بعض الفطريات فى نواح صناعية جديدة؛ مثل استخدامها فى إسالة الفحم لإنتاج وقود سائل، وفى تحليل اللجنين فى صناعة الورق، وفى إزالة الأيونات المعدنية والجزيئات غير الذائبة من المحاليل، وإزالة البارافينات من وقود الطائرات، وغير ذلك من مجالات تطبيقية صناعية هامة.

وأيضاً .. استخدمت عديد من الأنواع الفطرية فى مجالات التنقية الحيوية للبيئة؛ مثل معالجة النفايات الضارة، وخاصة تلك المحتوية على مواد سامة كالسيانيد، وكذلك فى إزالة تلوث التربة الزراعية بالمبيدات السامة المستخدمة فى مكافحة الآفات، وغير ذلك من مواد كيميائية أخرى ضارة.

ونظراً للدور الحيوى الهام الذى تلعبه الفطريات فى الأنشطة الإنسانية المختلفة، فإنه يجب علينا الاهتمام بدراسة هذه الفطريات فى بيئتها الأصلية؛ حتى نحصل على أقصى معلومات ممكنة عن طبيعة نموها وصفاتها، وكيفية توريث صفاتها لأجيالها التالية. فإذا ماتم لنا ذلك، أمكننا استغلال هذه الفطريات فى التقنيات الحيوية المختلفة استغلالاً نموذجياً.

ولقد تمكن العلماء - فى الآونة الأخيرة - من تعديل صفات جينوم **genome** بعض الفطريات الهيفية والخمائر، فيما يسمى بـ «الهندسة الوراثية». ولقد فتح ذلك آفاقاً واسعة لمزيد من الاستخدامات التطبيقية للفطريات فى مختلف التقنيات الحيوية. ولقد أدى ذلك إلى استخدام بعض فطريات الخميرة المعدلة وراثياً فى إنتاج الإنترفيرون **interferon**، كما أمكن استخدام كروموسومات الخميرة فى رسم خرائط الجينوم البشرى.

ومن الاكتشافات العلمية الباهرة ما قدمه المركز القومي البريطاني للتكنولوجيا الحيوية (عام ١٩٩١) ، من نتائج دراساتٍ باحثيه على بعض سلالات الخميرة المعدلة وراثياً ، والتي يمكنها بناء الهيموجلوبين. وسوف يفتح هذا الاكتشاف العلمى المجال واسعاً لإنتاج دم حقيقي للإنسان ، وليس بلازما فقط.

كما استخدمت الخميرة مؤخراً فى توليد الكهرباء ، فيما يسمى ببطارية الخميرة **Yeast Powered Cell** ؛ حيث أمكن استخدام مثل هذه البطاريات فى توليد طاقة كهربائية تكفى لتشغيل ساعة رقمية أو آلة حاسبة. ومازالت هذه الأبحاث جارية لتطوير الاستفادة من هذه الطاقة الكهربائية.

٤ - تطور التقنية الحيوية للفطريات :

اعتمدت دراسة الفطريات وعلاقتها بالإنسان على محورين أساسيين، كان أولهما هو اهتمام الإنسان بجمع ثمار عيش الغراب البرية للتغذية عليها، بينما اختص الثاني بدور الفطريات فى إصابة النباتات ودورها فى إحداث أمراض خطيرة لها، حددت الإنسان فى غذائه وصحته.

ومازال الإنسان يهتم بجمع ثمار الأنواع البرية من فطريات عيش الغراب، برغم خطورة وجود بعض الأنواع السامة التى قد نجد طريقها خطأً إلى غذائه ؛ مسببةً له أضراراً صحية قد تؤدى - فى بعض الحالات - إلى تهديد حياته.

ولقد اهتمت كثير من الجمعيات العلمية بتقديم النصائح للمهتمين بجمع هذه الثمار البرية من عيش الغراب ؛ مثل الجمعية البريطانية للفطريات-**British Mycological Society** ، والجمعية الأمريكية للفطريات **American Mycological Society** ، وغيرهما من الجمعيات الأخرى فى عديد من دول أوروبا.

ومن ناحية أخرى كانت بداية دراسة نشاط الفطريات فى بيئة الإنسان ممثلة فى تلك الأنواع الفطرية الممرضة للنبات، وخاصةً بعد اختراع المجهر ، وأصبح من المتيسر

مشاهدة الأنواع المختلفة من الفطريات. ومنذ ذلك الحين يدور علم الفطريات فى فلك علماء النبات؛ مبتعداً عن اهتمامات علماء الأحياء الدقيقة الأخرى الذين انشغلوا بدراسة البكتيريا ونشاطها الحيوى.

ولم يَدُم الحال السابق طويلاً ؛ فمع بداية القرن الحالى - القرن العشرين - بدأ علماء الفطريات وباحثوها فى الاهتمام بدراسة الدور الحيوى الهام الذى تقوم به الفطريات فى البيئة من حولنا، وعلاقتها بالكائنات الحية الأخرى. ولقد أسفرت هذه الدراسات عن إبراز أهمية الفطريات فى مجالات عديدة أخرى، بالإضافة إلى كونها ممرضات نباتية.

فعلى سبيل المثال، أظهرت الدراسات مدى أهمية الفطريات فى خصوبة التربة؛ نظراً لقدرتها على تحليل المواد العضوية المعقدة، وتحويلها إلى دبال humus، وكذلك أهمية فطريات الميكوريزا التى تنمو متعاونة مع جذور النباتات الحولية والعشبية والأشجار، محسنةً من نموها وحصولها على العناصر الغذائية اللازمة لنموها حتى فى الأراضي الفقيرة.

ولقد شارك عديد من علماء الأحياء الدقيقة فى إظهار مدى أهمية الفطريات فى زيادة خصوبة التربة الزراعية، مثال ذلك العالم S. Waksman ورفاقه؛ الذين قاموا - أيضاً - بإلقاء الضوء على أهمية استخدام بعض الفطريات فى الإنتاج الحيوى لبعض الأحماض العضوية؛ مثل استخدام الفطر *Rhizopus* فى إنتاج حمض الفيوماريك.

وفى أواخر ثلاثينيات القرن الحالى ، بدأ Waksman برنامجاً بحثياً يهدف إلى عزل بعض الفطريات والإكتينومايستات ذات القدرة العالية على إنتاج مضادات حيوية جديدة. ولقد توجت هذه الأبحاث بحصول هذا العالم على جائزة نوبل فى مجال الفسيولوجى والطب - بالاشتراك مع العالم A. Schatz - وذلك عام ١٩٥٢؛ لاكتشافه المضاد الحيوى ستربتومييسين Streptomycin ؛ الذى لعب دوراً هاماً فى

مكافحة مرض السل وغيره من الأمراض الخطيرة الأخرى التى تصيب الإنسان والحيوان.

وحتى نهاية عشرينيات هذا القرن ، كان معدل التقدم فى الاستخدامات التطبيقية للفطريات فى النواحي الصناعية محدوداً نسبياً ، حيث لم يتعدّ الطرق التقليدية فى استخدام الخمائر فى صناعة الخبز والمشروبات الكحولية، بالإضافة إلى إنتاج الأحماض العضوية؛ مثل حمض الستريك.

وفى عام ١٩٢٨ تم اكتشاف عديد من المركبات الحيوية الناتجة عن التمثيل الغذائى للفطريات والتى لم تظهر أهميتها التطبيقية فى ذلك الوقت. وبعد مرور سنوات عديدة ، أظهرت الأبحاث العلمية أهمية هذه المركبات فى علاج كثير من الأمراض. ولقد دفع ذلك عديداً من الباحثين إلى إعادة دراسة فسيولوجى الفطريات ، ونواتج التمثيل الغذائى الأولى والثانوى.

الباب الأول

الفطريات .. نشاطها وتركيبتها

الفطريات .. نشاطها وتركيبها

١ - وحدة التركيب :

تتضمن الفطريات مجموعة من الكائنات الحية الخالية من الكلوروفيل. وهي تشبه النباتات الخضراء في أن لكل منها جداراً خلويًا محددًا، عدا بعض الشواذ. ويتركب جسم الفطر من مجموعة من النموات الخيطية يطلق عليها اسم «هيفات hyphae» (مفردها hypha). وتتجمع هذه النموات الفطرية فيما بينها مكونة ما يسمى بالغزل الفطري (الميسليوم mycelium).

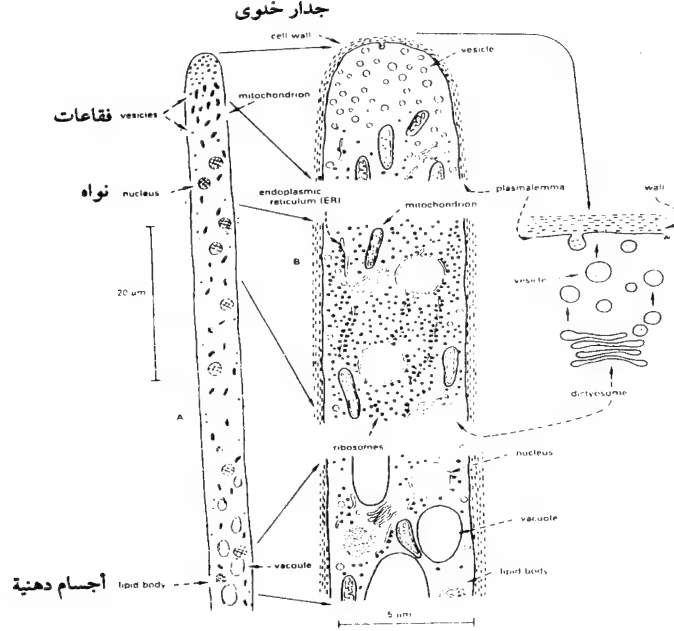
وتنمو هيفات الفطر طرفيًا، ولكن معظم أجزاء الجسم الفطري thallus لديه القدرة الكامنة على النمو؛ فأية فتية من أى جزء منه تكفى لبدا حياة جديدة، مكونة هيفات الفطر وتراكيبه المميزة. ويختلف الجسم الفطري عن النباتات الراقية في كون الأول بسيط التركيب، ولا يوجد به الجهاز الوعائى الذى يميز النباتات الراقية.

وتظهر الدراسات الحديثة تشابه خلايا الفطر مع خلايا النباتات الراقية؛ وذلك من ناحية وجود أنوية حقيقية بها، وأغشية نووية، وميتوكوندريا، وشبكة إندوبلازمية، بينما تسبح الريبوسومات فى السيتوبلازم، أو قد تتعلق بأغشية الشبكة الإندوبلازمية.

وهناك عديد من الفجوات العصيرية التى توجد داخل الخلية الفطرية، يخترن بداخلها بعض المواد الغذائية؛ مثل: الجليكوجين، والدهون (الليبيدات)، والفوليوتين volutin؛ وهو مركب معقد من الميتافوسفات.

ويحاط بروتوبلازم خلايا الفطر بغشاء بلازمى شبه منفذ، يغلف من الخارج بجدار

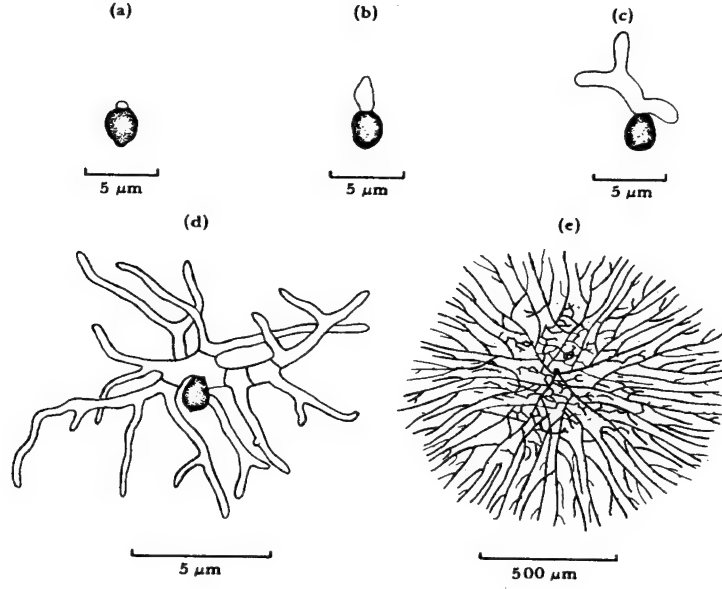
صلب منفذ. وفي معظم الفطريات يعتبر الشيتين **chitin** - وهو معقد من خلات الجلوكوز أمين **n-acetylglucosamine** - المكون الأساسي للجدار، بينما يتكون جدار الخمائر من معقد المانوز **mannose** (مانانات **mannans**) ، والجلوكوز (جلوكانات **glucans**).



شكل (٣) التركيب الدقيق في قطاع طولى للفطر *Pythium* عند منطقة القمة.

- A - رسم تخطيطي.
- B - رسم مكبر تفصيلي يعتمد على الفحص بالمجهر الإلكتروني.
- C - رسم يوضح كيف يتم تكوين الفقاعات من الديكتوسومات لتكوين غشاء سيتوبلازمي جديد عند منطقة القمة النامية، وبناء مواد جدارية جديدة.

وتمتلىء القمة النامية النشطة لهيما الفطر بالريبوسومات والميتوكوندريا، بالإضافة إلى بعض الفقاعات الصغيرة التي تتجمع مكونة الجدر العرضية والجسيمات والإنزيمات. أما في الأجزاء الهيفية الأكثر عمراً والأقل نشاطاً، فإنها تكون ممتلئةً بعددٍ من الفقاعات التي تملأ حيزاً كبيراً من السيتوبلازم.



شكل (4) : تطور نمو مزرعة فطرية من جرثومة منفردة.

(a) - المظاهر الأولية لبداية الإنبات.

(b) - ظهور أنبوب الإنبات.

(c - d) - تفرع الهيفات المتكونة.

e - مستعمرة صغيرة دائرية الشكل.

وينشأ ميسليوم الفطر - عادةً - نتيجة إنبات جرثومية؛ حيث يتكون أنبوب إنبات ينمو بسرعة من قمته، ثم يتفرع إلى فروع متعددة. وتنمو هيفات الفطر مستكشفةً ما يحيط بها، ومتأثرةً بالبيئة التي تنمو فيها، مبتعدةً عن مركز نموها تحت التأثير السلبي لنواحي تمثيلها الغذائي **negative chemotropism**.

ويختلف الوقت اللازم للنمو الفطري؛ حتى تتكون مستعمرة يمكن رؤيتها بالعين المجردة من ساعات قليلة إلى عدة أيام. ويتوقف ذلك على عديد من العوامل؛ لعل أهمها: نوع الفطر، وتوفر العناصر الغذائية اللازمة لنموه، والرطوبة النسبية الجوية حوله.

وعادةً ما يطلق على النموات الفطرية اسم «مستعمرة colony»، والتي يمكن فحصها بواسطة عدسة مكبرة قوية أو بالقوة الصغرى للمجهر. وتشاهد خلال هذا الفحص شبكة من نموات خيطية الشكل، يطلق على كلٍ منها اسم هيفا **hypha** (وجمعها هيفات **hyphae**).

وتعتبر الهيفات خيوطاً أسطوانية متفرعة، تحتوى على سيتوبلازم تسبح فيه عديد من الأنوية الحقيقية. وتتجمع الهيفات مكونةً جسم الفطر (الثالوس الفطري **thallus**)، بينما يطلق على هيفات الفطر النامية في مكان ما «الميسليوم **mycelium**». وقد تقسم خيوط الهيفات الفطرية بجدر عرضية، وتعرف بالهيفات المقسمة **septate hyphae**، وهذه الهيفات تميز الفطريات الراقية. أما الفطريات غير الراقية، فتكون هيفاتها غير مقسمة **aseptate hyphae**؛ حيث تسبح أنويتها في مدمج خلوي **coenocytic hyphae**.

ويتم تفرع الهيفات الفطرية على طول محورها الأصلي تفرعاً أحادى الشعبة **mon-opodial**، وينتج عن هذا التفرع المتكرر نموات هيفية جانبية تتوقف كثافتها على نوع الفطر والظروف المحيطة. ولا يتم التفرع أسفل القمة النامية للهيفا مباشرة، بل تترك - عادةً - مسافةً بعد النمو القمي للمحور الأصلي للهيفا دون تفرع؛ مما يؤدي إلى استمرار النمو الطولي للهيفا؛ مخترقةً المادة التي تنمو عليها.

وتكون هيفات الفطر وثيقة الاتصال بالمادة العضوية التي تنمو عليها؛ حيث تستمد غذاءها عن طريق الانتشار الغشائي المباشر. وتفرز هيفات الفطر مجموعةً متباينةً من الإنزيمات الخارجية المحللة للمواد العضوية، تساعد على استفادة الفطر من مختلف المواد العضوية في غذائه. كما يعمل نمو الهيفات وتفرعها على زيادة تلامسها مع تلك المادة العضوية التي ينمو عليها الفطر.

وعند نمو هذه الهيفات الفطرية على سطح بيئةٍ صلبةٍ، فإنها تنمو في جميع الاتجاهات على ثلاثة مستوياتٍ ؛ مكونةً مستعمرةً ذات شكلٍ محدبٍ. وينمو على سطح المستعمرة هيفات هوائية *aerial hyphae* ، بينما تخترق بقية الهيفات المادة العضوية التي ينمو عليها الفطر.

وتساعد الإنزيمات المحللة التي تفرزها هيفات الفطر على اختراقها للمواد العضوية الصعبة التي تنمو عليها؛ حيث ترتبط قدرة الهيفات الفطرية على اختراق مثل هذه المواد العضوية بمدى التهوية المتاحة.

ويظهر على المحيط الخارجي للمستعمرة الفطرية أطراف القمم النامية لهيفات الفطر وفروعها الجانبية؛ حيث تنمو المحاور الرئيسية لهذه الهيفات بطريقةٍ متوازيةٍ، بينما تتداخل الفروع الجانبية بعضها مع بعض مكونةً شكلاً شبكياً.

وتتركز أقدم هيفات الفطر عمراً في مركز المستعمرة؛ حيث تظهر عليها التراكيب الفطرية الحاملة للوحدات التكاثرية، والتي يسهل تمييزها عن الهيفات الفطرية العادية عند الفحص المجهرى.

٢- الوحدات التكاثرية :

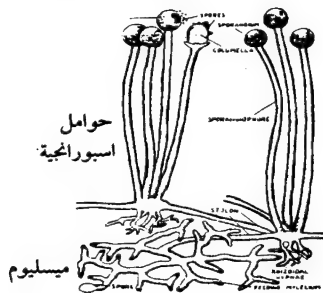
يطلق على الوحدات التكاثرية الفطرية - عادةً - اسم جراثيم *spores* (من اللاتينية *spora* بمعنى بذرة *seed*) ؛ فعلى سبيل المثال يحمل فطر العفن الأخضر من الجنس *Penicillium* جراثيمه على حاملٍ ينمو عمودياً متفرعاً من هيفاً أفقيةٍ. وينتهى هذا

الحامل بطرفٍ متفرعٍ يشبه في شكله المكنسة broom-like structure ؛ حيث تتكون الشعرة الواحدة منها من سلسلةٍ طويلةٍ من الجراثيم الصغيرة الكروية الشكل .

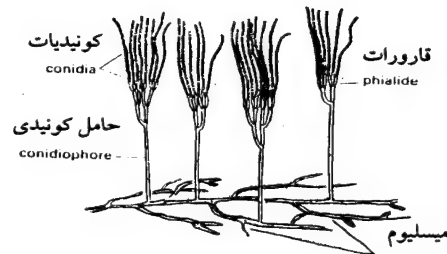
وفي فطر عفن الخبز من الجنس *Rhizopus* يحمل الحامل الجرثومي رؤوساً سوداء كروية الشكل. وعند تحضير شريحة من هذا الفطر، تنسحق تلك الرؤوس الكروية السوداء (الأكياس الأسبورانجية - sporangia - ومفردها sporangium)، وتخرج منها جراثيم بيضاوية الشكل داكنة اللون.

وتختلف جراثيم الفطر في أحجامها؛ فهي تتراوح بين عدة ميكرونات - كما هي الحال في جراثيم الفطر *Penicillium* - وأكثر من ٢٠٠ ميكرون كما في جراثيم بعض الأنواع التابعة للجنس *Helminthosporium*. وعلى الرغم من كبر حجم بعض الجراثيم، إلا أنها تتميز بخفة وزنها إلى درجة يسهل معها حملها بتيارات الهواء ونشرها بعيداً عن أماكن تكوينها.

اكياس اسبورانجية



شكل (٦) : ميسليوم وحوامل وأكياس
سبورانجية للفطر *Rhizopus*.



شكل (٥): ميسليوم وحوامل كونيدية
وكونيديات الفطر *Penicillium*.

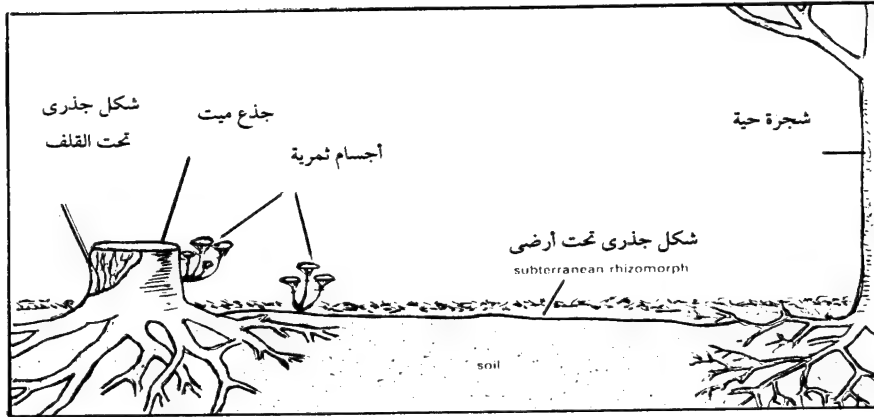
وتبقى جراثيم الفطريات محتفظةً بحيويتها لفترةٍ تطول أو تقصر تبعاً لنوعها (جنسية – لاجنسية)، وأيضاً لتركيبها. وهناك تراكيب فطرية أخرى تعمل على بقاء الفطر حياً لفتراتٍ طويلة؛ ومثال ذلك الأجسام الحجرية *sclerotia* (ومفردها *sclerotium*) التي تكونها بعض الفطريات؛ مثل فطر الأرجوت *Claviceps purpurea*.

وتتكون هذه الأجسام الحجرية من كتلٍ صغيرةٍ من هيفات الفطر المندمجة، التي تحاط من الخارج بطبقةٍ سميكةٍ داكنة اللون. وتعمل هذه الطبقة على حماية المحتويات الداخلية من الجسم الحجري من الجفاف والأشعة فوق البنفسجية ودرجات الحرارة الشديدة الارتفاع أو الانخفاض.

ومن التراكيب الفطرية اللاجنسية الأخرى – التي تعمل على احتفاظ الفطر بحيويته لفتراتٍ طويلة – الجراثيم الكلاميدية *chlamydospores*؛ والتي تتكون – بصفةٍ عامة – داخل هيفات الفطر المقسمة. وتتميز هذه الجراثيم بجدارها السميك، ومحتوياتها من السيتوبلازم ذى القوام الزيتي الثقيل.

وتعمل عديد من الفطريات البازيدية التي تنمو هيفاتها داخل الكتل الخشبية – مسببةً تحللها – على تكوين حبالٍ ميسليومية *mycelial cords* تتميز بسمكها وشكلها الذي يشبه أربطة الأحذية، والتي يطلق عليها اسم الأشكال الجذرية *rhizomorphs*. ويتكون الشكل الجذري نتيجة تجمع هيفاتٍ متوازيةٍ بعضها مع بعضٍ في تركيبٍ فطريٍ ممتدٍ يسمح لها بالنمو من قواعد الأشجار المصابة إلى مايحيط بها من أشجارٍ أخرى سليمة.

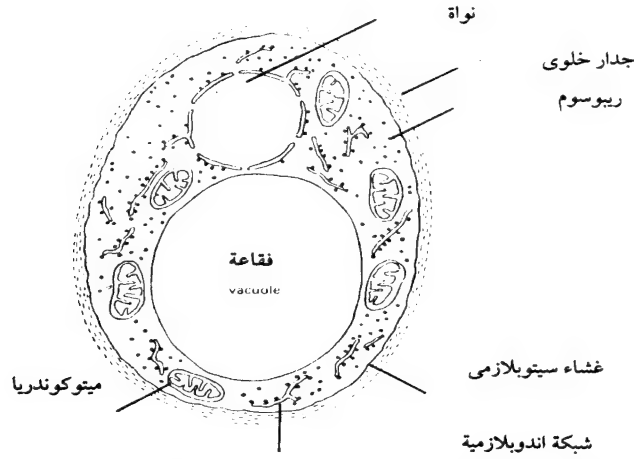
وتنمو مثل هذه الأشكال الجذرية بسرعةٍ كبيرةٍ، تصل إلى ستة أضعاف سرعة نمو الهيفات العادية، كما أنها يمكنها النمو لمسافاتٍ بعيدةٍ تصل إلى حوالى عشرة أمتارٍ. ومن أمثلة الفطريات المكونة لها فطر عيش غراب العسل *Armellaria mellea* المسبب لمرض عفن الجذور العيش غرابى لعديد من الأشجار.



شكل (٧) : فطر عيش غراب العسل *Armellaria mellea*. رسم يوضح طريقة نمو الأشكال الجذرية ومهاجمتها لجذور الاشجار السليمة البعيدة.

وفى بعض الفطريات يختزل النمو الميسليومى، ولاتتكون هيفات فطرية، بل يكون الفطر خلايا منفردة وحيدة صغيرة الحجم. وتنقسم هذه الخلايا مكونة وحدات أخرى تبقى لفترة على الخلية الأم، ثم تتحرر بعد ذلك. وأحياناً يتم الانقسام والتحرر فى وقت واحد.

ومن أمثلة الفطريات السابقة الخمائر yeasts؛ حيث تنمو خلية الخميرة حتى تصل إلى أقصى حجم لها، ثم تنقسم بعد ذلك. وهناك طريقتان لانقسام خلايا الخميرة : الأولى فى حالة الخمائر المنقسمة fission yeasts ؛ حيث تنقسم الخلية التامة النمو إلى خليتين متشابهتين فى الشكل والحجم، ثم تنمو الخلايا المنقسمة بعد ذلك، وتعاود الانقسام بعد استكمال نموها... وهكذا، مادامت هناك وفرة فى العناصر الغذائية اللازمة للنمو.

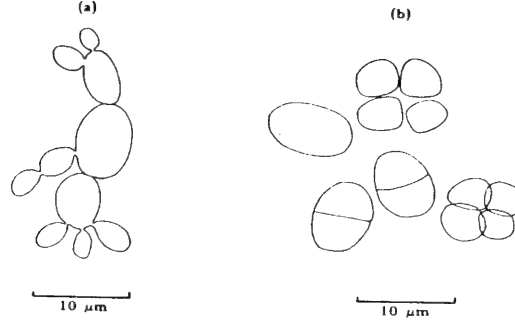


شكل (٨) : تركيب خلية الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* .

ويتضاعف عدد أفراد عشيرة الخميرة المنقسمة مع الوقت، وخاصة أن الوقت اللازم للانقسام والتضاعف قصير نسبياً، لا يتجاوز عشرين دقيقة؛ وذلك عند الظروف المناسبة. وعلى الرغم من صغر حجم خلايا الخميرة، إلا أن كتلتها الحيوية **biomass** النهائية الناتجة عن الانقسام تكون هائلة.

وفي الطريقة الثانية، تتبرعم خلايا الخميرة **budding** عند نقطة من جدارها الخلوي. وتستمر الخلية المتبرعمة متصلةً بالخلية الأم، وعندما تصل الخلية البرعمية في نموها إلى الحجم الحرج، فإنها تنفصل عن الخلية الأم، ثم تبدأ هي الأخرى في التبرعم... وهكذا.

وقد تتبرعم خلية الخميرة من أكثر من نقطة على سطح الخلية في وقت واحد، وأيضاً.. قد تتبرعم الخلية البرعمية قبل انفصالها عن الخلية الأم؛ وبذلك تتكون كتل



شكل (٩) : طريقتان لانقسام خلايا الخميرة من الجنس *Saccharomyces* :
(a) = التبرعم.
(b) = الانقسام.

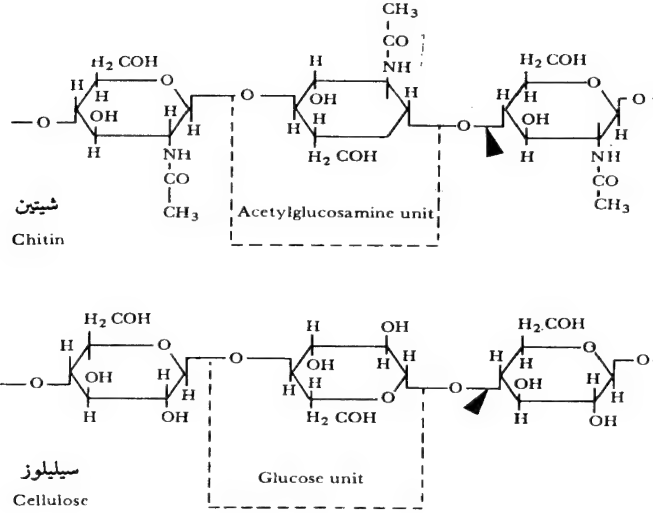
من سلاسل خلايا الخميرة المتبرعمة؛ يطلق عليها اسم «الميسليوم الكاذب -pseudo-mycelium». ويؤدي ذلك إلى تضاعف قدرة الخميرة على التكاثر، وتكوين أفراد جديدة.

٣- الجدار الخلوي في الفطريات :

يتربك الجدار الخلوي للفطريات من معقدات جلوكانية *glucan polymers*. ويتميز هذا الجدار بالليونة عند القمة النامية للهياف، أما بقية الجدار فهو صلب، غير مرّن، وغير قابل للتمدد؛ وهذا يجعل الهيافات قادرة على اختراق البيئات الصلبة التي تنمو عليها.

ويحتوى الجدار الخلوي لهيافات معظم الفطريات على كمية قليلة من الشيتين *chitin*؛ وهو مركب معقد صلب، يتم تخليقه من مادة ن - خلات الجلوكوز أمين *N.acetylglucosamine*. وتعمل هذه المادة على صلابة الجدر الخلوية للهيافات الفطرية، إلا أن هيافات بعض الفطريات تخلو من الشيتين؛ كما فى الفطريات البيضية، وبعض الخمائر التابعة للفطريات الأسكية.

ولقد قسّم Bartnicki-Garcia (1968) الجدر الهيفية للفطريات من ناحية محتواها من السكريات المعقدة إلى ثمانى مجموعات؛ حيث وجد أن ذلك التقسيم ذو علاقة إرتباطية بالجاميع التقسيمية للفطريات.



شكل (١٠): تركيب الشيتين Chitin والسيليلوز Cellulose يوضح طريقة ربط الوحدات الاساسية فيهما. تشير الاسهم إلى الأماكن التى تعمل فيها الإنزيمات لكسر السلسلة إلى وحدات أصغر.

فعلى سبيل المثال، وُجِدَ أن معظم الفطريات الراقية ذات الميسليوم المقسم تحتوى جدرها الخلوية على المعقد شيتين - جلوكان **chitin-glucan**، بينما تحتوى جدر هيفات فطريات أخرى على المعقد سيليلوز - جلوكان **cellulose-glucan**، والمعقد شيتين - شيتوسان **chitin-chitosan**، والمعقد مانان - جلوكان **mannan-glucan** - (جدول ٢).

جدول (٢) : التركيب الكيميائي لجدر هيفات المجاميع الفطرية .

عن (Bartnicki - Garcia, 1968)

المجموعة التقسيمية	التركيب الكيميائي للجدار الخلوى
١ - الأكراسيوميسيتات Acrasiomycetes	معقد من السيليلوز والجليكوجين cellulose - glycogen
٢ - الفطريات البيضية Oomycetes	معقد من السيليلوز والجليكان cellulose - glycan
٣ - الهيفوكتريديوميسيتات Hyphochytridiomycetes	معقد من السيليلوز والشيتين cellulose - chitin
٤ - الفطريات الزيجية Zygomycetes	معقد من الشيتين والشيتوسان chitin - chitosan
٥ - الفطريات الكثريةدية الفطريات الأسكية Ascomycotina الفطريات البازيدية Basidiomycotina الفطريات الناقصة Deuteromycotina	معقد من الشيتين والجلوكان chitin - glucan
٦ - الفطريات الاسكية غير الحقيقية، وتشمل عائلات الخمائر Hemiascomycetes Saccharomycetaceae , Cryptococaccae	معقد من المانان والجلوكان mannan - glucan
٧ - الفطريات البازيدية عائلة Basidiomycotina Sporobolomycetaceae	معقد من المانان والشيتين mannan - chitin
٨ - الترايكوميسيتات Trichomycetes	معقد من البولى جلاكتوز أمين والجلالكتان polygalactosamine - galactan

وتركيب الجدار الخلوى فى الفطريات البيضية التابعة للماستيجومايكوتات Mastig-omycotina ذات الهيفات غير المقسمة من السيليلوز؛ مثال ذلك: الفطر *Phytophthora* الذى تحتوى جدره الخلوية على حوالى ٩٠٪ جلوكان *glucan* من وزنها الجاف. ويعتقد أن ربع هذه الكمية عبارة عن سيليلوز (معقد من الجلوكوز المرتبط برابطة β -1,4)، والباقى عبارة عن معقد من سلاسل متفرعة من الجلوكوز المرتبط بروابط β -1,3 و β -1,6.

ومن المميزات الأخرى لجدر هيفات الفطريات البيضية وجود الحمض الأمينى هيدروكسى برولين *hydroxyproline*. ولا يوجد هذا الحمض الأمينى فى الفطريات ذات الجدر الشيتينية، ولكنه يميز الجدر الخلوية للطحالب الخضراء والنباتات البذرية. ويعتقد أن هذا الحمض الأمينى يكون رابطة هامة بين السيليلوز وبروتينات الجدار الخلوى.

ومن ناحية أخرى، تتركب جدر هيفات الفطريات الزيجية من معقد الشيتين والشيتوسان *chitin-chitosan*؛ حيث يعتبر الشيتوسان معقداً شبيهاً بالشيتين، ولكنه خالٍ من حمض الخليك *non-acetylated chitin-like polymer*.

كما أن تركيب الجدار الخلوى لأى نوع من الفطريات ليس متشابهاً تحت جميع الظروف، بل على العكس من ذلك؛ فالمركبات التى قد تكون موجودة فى الهيفات الفطرية عند بداية تكوينها قد تختفى كليةً عندما تتقدم هذه الهيفات فى العمر.

وقد تترسب بعض المركبات الأخرى على الجدار الخلوى؛ لتختفى تحتها مركبات أخرى سبق تكوينها؛ مما يجعل الكشف عن مثل هذه المركبات صعباً للغاية. وتلعب بعض العوامل الخارجية – مثل درجة الحرارة، ورقم الحموضة – دوراً هاماً فى تركيب الجدار الخلوى لمثل هذه الفطريات.

فعلى سبيل المثال، وُجدَ معقد المانوز *mannose* فى الجدر الخلوية للفطريات

الشبيهة بالخمائر، بينما وُجدَ معقد المانان والجلوكان في جدر الخمائر الحقيقية، والأطوار الشبيهة بالخمائر في بعض الفطريات الأخرى. ويوجد معقد المانان في مثل هذه الفطريات خلال فترة تكوينها للخلايا المتبرعمة الشبيهة بالخميرة؛ حيث يعمل على مرونة خلاياها وسهولة تبرعها.

ويتميز الجدار الخلوي لهيفات معظم الفطريات بتكوين متعدد الطبقات؛ حيث تظهر الطبقة الداخلية مكونة من نسيج محبوك من ألياف دقيقة **microfibrillar texture** ، بينما يبدو السطح الخارجى للجدار غير مميز التركيب.

الباب الثاني

الاحتياجات اللازمة لنمو الفطريات

الاحتياجات اللازمة لنمو الفطريات

يتأثر نمو الفطريات - شأنها في ذلك شأن باقي الأحياء الأخرى - بالعوامل البيئية التي تحيط بها؛ حيث تؤثر مثل هذه العوامل الخارجية ليس فقط على معدل نموها، ولكن أيضاً في حالات كثيرة يمكن أن تحدث تغيرات في طبيعة النمو ومحتوياتها الكيميائية.

ولقد أدى ذلك الاختلاف في طبيعة نمو عديد من الفطريات إلى حيرة الباحثين والعاملين الأوائل في مجال الفطريات؛ حيث وصفوا أنواعاً بل أجناساً لفطريات لم تكن سوى لنوع واحد، إلا أن نمواته تعرضت لظروف بيئية مختلفة أدت إلى تباين النمو؛ فظهرت هذه الاختلافات الفسيولوجية physiological variants لنفس نوع الفطر.

١- الاحتياجات الغذائية Food requirements :

يعتبر كل من الماء والأكسوجين عاملين في غاية الأهمية لنمو الفطريات، علاوة على العناصر الغذائية الكبرى macroelements الواجب توافرها بكمية كبيرة نسبياً تكفي لسد الاحتياجات الغذائية للفطر؛ وهي: الكربون، والنيتروجين، والفوسفور، والكبريت والكالسيوم والبوتاسيوم، والمغنسيوم والحديد، بينما تعتبر عناصر الزنك والنحاس والمانتجنيز والموليبدنم من العناصر الغذائية الصغرى microelements التي يحتاج إليها الفطر بكميات قليلة لا تتجاوز عدة أجزاء من المليون.

وفي بعض حالات نمو الفطر على بعض المواد الغذائية، فإنه يحتاج في نموه إلى بعض العناصر الصغرى الإضافية additional microelements؛ مثل: الجاليوم والنيكل.

وحيث إن النباتات تحتاج - هي الأخرى - في نموها إلى مثل هذه العناصر

الصغرى الأساسية *essential trace elements* ، فإن البيئات الغذائية التى يتم تجهيزها من أجزاء نباتية بغرض إنماء الفطريات عليها تكون - غالباً - محتوية على كل ما يحتاج إليه النمو الفطرى من عناصر غذائية كبرى وصغرى.

وبعض هذه العناصر الصغرى التى يحتاج إليها الفطر فى نموه بكميات ضئيلة، تتم إضافتها عند تجهيز البيئة الغذائية باستعمال مواد كيميائية (أملاح) غير نقية، أو يتم استخلاصها - خلال عملية التعقيم - من زجاج القارورات المستخدمة فى تجهيز وتعقيم مثل هذه البيئات الغذائية.

وطبقاً لما سبق، فإنه يجب اتخاذ كافة الإجراءات اللازمة عند دراسة تأثير العناصر الغذائية الصغرى على نمو الفطريات؛ وذلك عن طريق استعمال أملاح معدنية نقية وقارورات زجاجية من نوع خاص؛ فعلى سبيل المثال، وجد (Smith 1949) فى أبحاثه الخاصة باستعمال كيماويات غير نقية وماء مقطر فى أجهزة زجاجية *glass distilled water* أن عديداً من الأنواع التابعة للجنس *Penicillium* تنمو نمواً غير عادي *ab-normal growth*، وأنه يجب إضافة كميات من الزنك والنحاس تتناسب مع كمية الحديد إلى بيئة زابكس، سواء السائلة، أم تلك المضاف إليها الآجار لحث الفطر على النمو الطبيعى، ولتكوين كونيديات الفطر بصورة جيدة.

وتستطيع معظم الفطريات المتربة *mould fungi* الاستفادة من المصادر غير العضوية لجميع العناصر الغذائية الأساسية *essential elements* عدا الكربون؛ لذا فإنه يجب أن يتوافر للفطر فى صورة عضوية. وهناك عدد قليل من الفطريات التى لا تستطيع الاستفادة من النيتروجين غير العضوى، بينما يمكن لبعض الفطريات الأخرى (مثل الفطر *Rhizopus stolonifer*) النمو جيداً على بيئة غذائية تحتوى على أملاح الأمونيوم *ammonium salts*، أو على مركبات الأمينو *amino compounds*، إلا أنه لا يستطيع الاستفادة من النيتروجين إذا وجد فى البيئة الغذائية على صورة ملح نيتراتى.

وعلى الرغم مما سبق، فإن هناك أنواعاً متباينة من المواد العضوية الطبيعية يمكن أن تنمو عليها أنواع عديدة من الفطريات المترمة بصورة دائمة؛ وهذا يدل على أن هذه الفطريات يمكنها تحمل تركيزات متباينة من العناصر الغذائية الأساسية، وأن مثل هذه الفطريات يمكنها الاستفادة من الكربون والنيتروجين الذي يوجد في الطبيعة مرتبطاً بعدد من الصور المختلفة للمواد العضوية.

ولقد وجد الباحثان (Gupta & Nandi (1957 أن إحدى سلالات الفطر *Penicilium vermiculatum* أمكنها إنتاج أجسام ثمرية أسكية دورقية الشكل *perithecia* عند إنمائها على بيئة غذائية تحتوي على نسبة كافية من النتروجين تتراوح بين 0.05% و 1.0% من ملح نترات الصوديوم.

وبالإضافة إلى العناصر الغذائية الأساسية *essential elements*، يمكن للفطريات الاستفادة من - أو على الأقل امتصاص - بعض العناصر الأخرى التي لا يؤثر وجودها أو غيابها على نمو هذه الفطريات؛ فعلى سبيل المثال، وجد عند تحليل رماد الفطر *Aspergillus niger* مادة سليكات البوتاسيوم، وهي مادة ليست أساسية لنمو الفطر، ولكن ميسليوم الفطر امتصها من البيئة التي ينمو عليها برغم عدم أهميتها.

وكذلك الحال في الكلور *chlorine*؛ فهو غير ضروري لنمو الفطر، ولكنه عادة ما يضاف إلى بيئة نمو الفطريات على صورة ملح كلوريد البوتاسيوم؛ كما هي الحال عند تجهيز بيئة *Czapek-Dox solution*؛ وذلك كمصدر هام لعنصر البوتاسيوم، إلا أن هناك بعض الفطريات - على الرغم من ذلك - تستفيد من الكلور الموجود في مثل هذه البيئات الغذائية، وتكون منه مركبات عضوية معقدة.

فعلى سبيل المثال، وجد الباحثان (Raistrick & Smith (1936 أن هناك سلالة واحدة من الفطر *Aspergillus terreus* يمكنها الاستفادة من أكثر من 90% من الكلور الموجود في محلول بيئة *Czapek-Dox*، ووجد أن معظم هذا الكلور موجود في مركبين الأول هو (جيودين *geodin*: $C_{17}H_{12}O_7Cl_2$) والثاني هو (إردين *erdin*: $C_{16}H_{10}O_7Cl_2$).

وفى هذا المجال نشر Clutterbuck et al. (1940) حصراً لعدد كبير من أنواع الفطريات التى يمكنها تمثيل الكلور تمثيلاً غذائياً؛ حيث أوضح هؤلاء الباحثين أن معظم أنواع هذه الفطريات المختبرة يمكنها الاستفادة من الكلور بدرجة محدودة، بينما قليل من هذه الفطريات استطاع تمثيل أكثر من ٢٥٪ من الكلور الكلى الموجود فى البيئة. وفى هذه الدراسة وجد الباحثون أن الفطر *Caldoromyces fumago* يمكنه الاستفادة من حوالى ٩٥٪ من إجمالى كمية الكلور الموجودة فى البيئة؛ منتجاً مركباً معقداً هو كالداريومييسين caldariomycin ($C_5 H_8 O_2 Cl_2$).

وبالإضافة إلى ماسبق، فهناك مركبات عضوية معقدة أخرى تحتوى على الكلور، ويتم تكوينها بواسطة بعض الفطريات المترمة؛ مثال ذلك مركب جريسيو فلفين griseofulvin ($C_{17} H_{17} O_6 Cl$)؛ وهو يعتبر أحد نواتج التمثيل الغذائى الثانوى للفطر *Penicillium griseofulvum* (Grove, 1964) ومادة سكليوتورين-sclerotiorin ($C_{21} H_{22} O_5 Cl$) in ويكونه الفطر *P.sclerotiorum* والفطر *P.multicolor*. كأحد نواتج التمثيل الغذائى الثانوى (Birkinshaw, 1952).

وهناك بعض الفطريات الأخرى التى تحتاج فى نموها - بالإضافة إلى ماسبق ذكره من عناصر غذائية - إلى كميات بسيطة من المركبات العضوية المعقدة؛ بعضها عبارة عن فيتامينات Vitamins؛ والتى ترجع أهميتها إلى تأثيرها المباشر على النمو، ولكن بطريقة لا يمكن مقارنتها بالعناصر الغذائية التى سبقت الإشارة إليها.

ويمكن لعدد من الفطريات المترمة النمو جيداً على بيئات غذائية صناعية-synthetic media، يتم تجهيزها باستعمال الجلوكوز والأملاح النقية، دون الحاجة إلى إضافة مواد مكملية مشجعة للنمو. ومع ذلك.. فلا يمكن القول إن نمو مثل هذه الفطريات السابقة لا يحتاج إلى مثل هذه المواد؛ فلقد وجد أن هذه الفطريات يمكنها أن تخلق بنفسها ما تحتاج إليه من المواد المشجعة للنمو دون الحاجة إلى إمداد خارجي منها؛ بينما هناك فطريات أخرى (مثل الفطريات *Penicillium digitatum* و *Sordar* -

ia fumicola وغيرها من الفطريات الأسكية) تنمو نمواً ضعيفاً، وربما لا تنمو على الإطلاق على بيئة آجار زابك Czapek agar، بينما تنمو جيداً على بيئة آجار المولت malt agar، أو أية بيئة طبيعية أخرى.

ووجد - أيضاً - أن بعض الفطريات الأسكية تنمو هيفاتها نمواً جيداً على البيئات الصناعية؛ مكونة أجساماً ثمرية دورقية perithecia، إلا أنها تكون عقيمة، خالية من الأكياس والجراثيم الأسكية. ولكن عند إضافة مواد إضافية مشجعة للنمو إلى مثل هذه البيئات الصناعية، تكونت أجسام ثمرية خصبة تحتوى على الأكياس والجراثيم الأسكية.

ويعتبر الفطر *Phycomyces blakesleeanus* أول الفطريات التي اكتشف فيها مدى احتياجها إلى الفيتامينات كمادة مشجعة لنموها؛ حيث وجد أنه يحتاج إلى الثيامين thiamin (أنيورين aneurin وفيتامين B1). ومنذ ذلك الحين، عرف أن معظم الفطريات التي تحتاج إلى إمداد خارجي للمواد المشجعة للنمو تحتاج - في الحقيقة - إلى الثيامين، سواء في صورته النهائية، أم كمركبات أولية يستعملها الفطر في تخليق هذا الفيتامين.

فعلى سبيل المثال، وجد أن الفطر *P.blakesleeanus* يمكنه تخليق الثيامين إذا توافر في البيئة التي ينمو فيها مركبات البيريميدين pyrimidine والثيازول thiazole، بينما تحتاج فطريات أخرى إلى أحد المركبين السابقين فقط، حيث إنها تستطيع تخليق المركب الآخر خلال دورة تمثيلها الغذائي.

وتحتاج بعض الفطريات إلى البيوتين Biotin (فيتامين H)، وقليل منها يحتاج إلى البيريدوكسين pyridoxine (فيتامين B6). ونادراً ما تحتاج الفطريات إلى الإينوسيتول inositol، والريبوفلافين riboflavin، وبارا أمينو حمض البنزويك p.aminobenzoic acid والتي تحتاج إليها الفطريات - عادة - بكمية ضئيلة لاتتعدى أجزاء من المليون، وذلك للتخليق الحيوي لحمض الفوليك.

ولقد أدى التعرف على مدى احتياج بعض الفطريات للفيتامينات المختلفة إلى استخدامها في التجارب الحيوية؛ التعرف على وجود مثل هذه الفيتامينات أو غيابها؛ حتى في التركيزات الشديدة الانخفاض. ويعتبر استخدام الفطريات في مثل هذه الاختبارات أقل تكلفةً بكثير وأكثر سرعةً من التجارب التي تستخدم فيها حيوانات التجارب.

فعلى سبيل المثال، يستخدم الفطر *Phycomyces blakesleeanus* لتقدير فيتامين الثيامين، ويستخدم الفطر الشبيه بالخميرة *Nematospora gossypii* لتقدير البيوتين والإينوسيتول *inositol*، بينما يمكن استخدام بعض سلالات الفطر *Neurospora sato* و *phila* والفطر *N.crassa* في تقدير عديد من الفيتامينات والأحماض الأمينية. ولكن لم يكتشف - حتى الآن - أحد الفطريات التي تحتاج في نموها إلى الريبوفلافين (فيتامين B2)؛ ومن ثم لا يمكن استخدام الفطريات في الكشف عن هذا الفيتامين، إلا أنه يمكن استخدام الأنواع التابعة لبكتيريا من الجنس *Lactobacillus* في ذلك الغرض.

٢ - التهوية :

تحتاج معظم الفطريات إلى الأكسوجين عند نموها، بينما يمكن لعديد من فطريات الخميرة النمو عند غمرها تماماً في البيئة السائلة؛ حيث تكون كمية الأكسوجين المتاحة للتنفس محدودة، ولكن خلال تخمر السكر تحت هذه الظروف تتكون بعض خلايا الفطر، إلا أنها تكون قليلةً بالمقارنة بالخلايا المتكونة تحت الظروف الهوائية.

وتنتج بعض الفطريات الأخرى تراكيب فطرية معينة قد تتشابه مع خلايا الخميرة، أو تكون تراكيب لزجة؛ وذلك عند نموها مغمورة في البيئة السائلة، إلا أنه في جميع هذه الحالات يكون نمو الفطر بطيئاً، ويتوقف على كمية الأكسوجين الذائبة في محلول بيئة النمو.

وتنبت جراثيم عديد من الفطريات الهيفية *filamentous fungi*؛ وذلك عندما

تغمر في محلول البيئة الغذائية ، إلا أنه عندما تنمو هيفات الفطر، فإنها تنمو ببطء شديد حتى تصل بعض الهيفات النامية إلى سطح البيئة السائلة؛ حيث نجد ما تحتاج إليه من أكسوجين، عندئذ تنمو هذه الهيفات بسرعة وتطفوا على سطح البيئة، حتى يغطي النمو الفطري هذا السطح.

وينتج عن التمثيل الغذائي الطبيعي للفطريات هدم لبعض المواد الغذائية العضوية إلى ثاني أكسيد الكربون، فإذا لم تتم إزالة هذا الغاز بصفة دورية وإحلال هواء نقي - محمل بالأكسوجين - بدلاً منه، يتوقف نمو الفطر.

ويتم إنماء الفطريات المترمة - عادة - على بيئات غذائية سائلة داخل أنابيب اختبار زجاجية طول الأنبوبة منها ١٥ سنتيمتراً، يتم إغلاقها بسدادات قطنية؛ حيث يبلغ عمق البيئة السائلة في الأنبوبة حوالي ثلاثة سنتيمترات. وتحتضن هذه الأنابيب في وضع عمودي؛ حيث يتراكم غاز ثاني أكسيد الكربون فوق سطح البيئة السائلة.

وفي حالة إنماء الفطر في بيئة غذائية سائلة داخل دورق زجاجي، أو على بيئة الآجار المائل *sloped agar* داخل أنابيب اختبار، فإن مسطح البيئة يزداد بالنسبة إلى الفوهة المغلقة بالسداة القطنية؛ مما يجعل الظروف الداخلية أكثر سوءاً. ومع ذلك فإن تحليل الهواء الداخلي لمثل هذه الأوعية المغلقة التي ينمو فيها فطر ما أوضح أن هناك اختلافات محدودة بالمقارنة بالهواء النقي العادي؛ وهذا يعني أن هناك آلية معينة تتم خلالها إزالة سريعة لغاز ثاني أكسيد الكربون المتكون، ودخول هواء نقي بدلاً منه.

وفي الدراسات العديدة التي أجريت عند إنماء الفطريات - على بيئات غذائية داخل أوعية زجاجية مغلقة بسدادات غير منفذة للهواء - وجد أن ذلك أدى إلى نقص إمداد المزرعة النامية بما يكفيها من الأكسوجين، ولقد أدى ذلك ليس فقط إلى تقليل معدل نمو الفطر، ولكن أيضاً إلى تغيير نوع هذا النمو. وفي بعض الحالات أدت قلة التهوية إلى منع تلون ميسليوم الفطر وجراثيمه باللون الطبيعي.

ولاستطيع الفطريات تمثيل غاز ثاني أكسيد الكربون تمثيلاً ضوئياً *photosynthesis*

ولكنها تنتج عن طريق التنفس. ولقد وجد أن بعض الفطريات يمكنها إعادة امتصاص غاز ثاني أكسيد الكربون ، ثم تستخدمه في بناء بعض المركبات العضوية المحتوية على أربع ذرات كربون أو أكثر؛ وذلك من مركبات تحتوي على ثلاث ذرات كربون ناتجة من تحلل الجلوكوز؛ حيث أثبتت الدراسات التي استخدم فيها الكربون المشع أن بعض النواتج الحمضية الناتجة من التمثيل الغذائي للفطريات *acidic metabolic products* - مثل حمض الستريك - تتكون بهذه الطريقة.

٣- رقم الحموضة :

تتحمل معظم الفطريات المتربة مدى واسعاً من تركيز أيون الهيدروجين، بينما تفضل بعض هذه الفطريات تركيزات معينة؛ فإذا تغيرت هذه التركيزات أدى ذلك إلى تغير في طبيعة نمو الفطر. ولقد أظهرت نتائج عديد من الدراسات أن رقم الحموضة يؤثر تأثيراً مباشراً على نشاط الإنزيمات الخارجية وعلى التمثيل الغذائي للفطر.

وبصفة عامة، تناسب البيئة المائلة للحموضة لإنبات الجراثيم، بل وتشجعها على الإنبات وعلى النمو خلال المراحل الأولى لتكوين مستعمرة فطرية حديثة، بينما يناسب الوسط المائل للقلوية نمو معظم أنواع البكتيريا.

وعندما يستكمل الفطر نموه - مكوناً مستعمرة فطرية - يتغير تأثيره بتركيز أيون الهيدروجين؛ حيث يرجع ذلك إلى تراكم نواتج التمثيل الغذائي في بيئة النمو. وهناك عديد من الأنواع التابعة للفطرين *Aspergillus* و *Penicillium* تكون كميات هائلة من الأحماض العضوية؛ مثل: الأوكساليك *oxalic* ، والستريك *citric* ، والجلوكونيك *gluconic* بنسب متفاوتة.

وفي حالات أخرى لا تنتج بعض الفطريات خلال تمثيلها الغذائي نواتج ذات طبيعة حامضية تعمل على تغيير رقم حموضة البيئة التي تنمو فيها؛ ومن ثم يستمر رقم حموضة البيئة متوقفاً على نوع الأملاح غير العضوية المستخدمة في تجهيزها؛ فعلى سبيل المثال، فإن استهلاك الفطر للنيتروجين الموجود في أملاح نترات الصوديوم أو

البوتاسيوم يؤدي إلى تحرير أيونات الصوديوم أو البوتاسيوم ذات التأثير القاعدي؛ مما يسبب ارتفاع رقم حموضة البيئة، بينما يؤدي استهلاك النيتروجين من ملح كبريتات الأمونيوم إلى تحرير أيون الكبريتات الحامضي؛ فينخفض رقم الحموضة.

وفي وجود كمية كافية من الأملاح المنظمة لرقم الحموضة *buffer salts*، فإن رقم حموضة البيئة يميل إلى الثبات في مثل الحالات التي سبقت الإشارة إليها، أو - على الأقل - تكون التغيرات الناتجة في رقم الحموضة محدودة. كما أن بعض الفطريات تقوم بإفراز كميات قليلة من الأحماض العضوية خلال المراحل المبكرة من نموها على البيئة الغذائية، ثم تقوم باستهلاكها بعد ذلك كأحد مصادر الكربون. وفي مثل هذه الحالات ينخفض رقم الحموضة في بداية نمو الفطر على البيئة، ثم يزداد هذا الرقم مع زيادة نموه.

وفي بعض الحالات، يدل مظهر النمو الفطري على التغيرات التي تحدث في بيئة النمو؛ ففي بعض الأنواع الخضراء اللون من الجنسين *Aspergillus* و *Penicillium* يظل ذلك اللون الأخضر المميز للمستعمرات الحديثة باقياً لشهور طويلة عند نمو الفطر على بيئة حمضية تحتوي على مادة منظمة للنمو *buffered acid medium*؛ مثل بيئة منقوع المولت *beer wort*.

ومع ذلك، فعند نمو مثل هذه الفطريات على بيئة زابكس - التي تميل إلى القلوية - فإن إنتاج الفطر للأحماض العضوية يغير من رقم حموضة البيئة إلى المتعادل، ثم تميل إلى الحموضة بعد ذلك، ويصاحب ذلك تغير تدريجي في اللون الأخضر للكونيديات المتكونة إلى لون بني ذي ظلال رمادية.

وتنتج بعض الفطريات صبغات داكنة اللون *mould pigments*، سواء داخل ميسليوم الفطر أم خارجه، وقد تفرز مثل هذه الصبغات في البيئة الغذائية التي ينمو فيها الفطر. وتعمل هذه الصبغات كمؤشر يوضح ارتباط التغيرات الناتجة في لون مثل

هذه الصبغات الفطرية وعلاقتها بالتغير في رقم حموضة البيئة التي ينمو فيها ذلك الفطر.

٤- الضوء :

من الصعب وضع تصور عام يوضح تأثير الضوء على نمو الفطريات؛ فهناك بعض الأنواع الفطرية التي تنمو بصورة جيدة؛ سواء في الضوء أم الظلام، دون أن يؤثر ذلك في معدل نموها أو طبيعته، بينما هناك أنواع أخرى من الفطريات يتأثر نموها كمًا ونوعًا بالضوء.

فعلى سبيل المثال، بعض الفطريات الزيجية التابعة للعائلة *Mucoraceae* لا تبنى تأثيراً ما بالإضاءة المتوسطة، بينما بعض سلالات فطر العفن العادي *Rhizopus stolonifer* تنمو في الضوء المنتشر بدرجة أسرع منها في الظلام.

كما أن بعض الفطريات ذات قدرة موجبة على الانتحاء الضوئي-positively photo-tropic؛ وهذا يعنى اتجاه نموها نحو مصدر الضوء، أو أنها تقوم بتوجيه أجسامها الثمرية التي تكونها بحيث تواجه أكثر الأماكن استضاءةً. ومن أمثلة هذه الفطريات فطر *Phycomyces blakesleeenanus*؛ الذى يكون حوامل أسبورانجية قصيرة نسبياً عندما تتعرض المستعمرة الفطرية للضوء، بينما تستطيل هذه الحوامل الأسبورانجية، وتصل إلى حوالى ٢٠ - ٣٠ سنتيمتراً إذا نما الفطر على طبقة من البيئة الغذائية موضوعة في قاع وعاء عميق؛ بحيث يسمح بدخول الضوء من قمته فقط.

وهناك عديد من الأنواع الفطرية الأخرى التي تظهر مثل هذا السلوك؛ مثال ذلك: الأنواع التابعة للجنس *Pilobolus*؛ الذى يقذف أكياسه الأسبورانجية - عند نضجها - بقوة في اتجاه مصدر الضوء. وفي فطريات أخرى - مثل فطر عيش الغراب المحلل للخشب *Lentinus lepideus* - تنمو سيقان أجسامها الثمرية ناحية الضوء، بينما يتم تكوين القبعة فقط عندما تزيد الإضاءة عن حد معين.

وفي بعض الفطريات المكونة للأجسام الثمرية الأسكية الدورية *perithecia* التابعة

لرتبة البيرينوميستات *Pyrenomycetes* - خاصة تلك الأنواع التي تنمو على روث الحيوانات العشبية - توجه أعناقها ناحية أقصى مصدر للإضاءة. وفي مثل هذه الحالات يمثل الانتحاء الضوئي نوعاً من التأقلم مع الظروف البيئية التي ينمو فيها الفطر؛ ليحقق أكبر قدرة ممكنة على نشر جراثيمه.

وفي دراسة قام بها الباحث Williams (1959) وصف خلالها تأثير الضوء على حجم الجراثيم المتكونة؛ لاحظ أن جراثيم أنواع الفطريات المختبرة التي تكونت تحت ظروف الظلام كانت أكبر حجماً من تلك المتكونة تحت ظروف الإضاءة المستمرة.

كما أوضحت دراسات أخرى أن الضوء يعمل على حث الفطر على تكوين مزيد من الجراثيم أو الأجسام الثمرية.. ويؤدي تعرض النمو الفطري إلى ضوء الشمس فترة قصيرة، أو للأشعة فوق البنفسجية *ultraviolet rays* إلى زيادة تكوين الجراثيم في المزارع الفطرية؛ إلا أنه عندما يزداد تعرض الفطر للأشعة فوق البنفسجية فترة أطول، يموت ميسليوم الفطر، وكذلك تموت الجراثيم. ولقد لوحظ أن الجراثيم داكنة اللون، تكون أكثر مقاومة لهذا التأثير الضار الناتج من تلك الأشعة؛ بالمقارنة بالجراثيم الفاتحة اللون أو العديمة اللون (الشفافة).

ولقد وجد أن تعرض النموات الفطرية لجرعات معتدلة من الأشعة فوق البنفسجية - لا تكفي لقتلها - يؤدي إلى زيادة معدل التطفر في الجراثيم المحتفظة بحيويتها. وتستعمل هذه الطريقة - عادة - للحصول على سلالات فطرية جديدة ذات صفات كيميائية مرغوبة.

٥. درجة الحرارة :

تظهر الفطريات اختلافات كبيرة في مدى تأثرها بتغير درجات الحرارة، ومدى تحملها للحرارة العالية وللبرودة. وعادةً ما تستخدم الحرارة المرتفعة في تعقيم البيئات الغذائية والأوعية الزجاجية والأدوات المعملية، وكذلك للتخلص من النموات الفطرية غير المرغوبة والتلوثات الميكروبية.

وتختلف الفطريات فيما بينها في حساسيتها للحرارة المرتفعة، فعلى سبيل المثال.. تموت بعض سلالات الفطر *Penicillium brevi-compactum* إذا زادت فترة تعرضها لحرارة ٢٣°، بينما يبقى الفطر *Byssochlamys fulva* - وهو الفطر المسبب لكثير من مشاكل تلوث المعلبات الغذائية - محتفظاً بحيويته، برغم مراحل التعقيم العادية التي تمر بها المواد الغذائية المعلبة، والتي تتعرض خلالها لدرجة حرارة أعلى من ٩٠°؛ لفترة زمنية قصيرة.

وكذلك الحال في الجراثيم الأسكية للفطر المسبب للعفن الأحمر في الخبز - *Neurospora sitophila* ؛ والذي يمكنه الاحتفاظ بحيويته داخل رغيف الخبز؛ خلال خبزه داخل الفرن، والذي يتميز بأن جراثيمه الأسكية لا يمكنها الإنبات إلا إذا تعرضت لدرجة حرارة ٦٠° على الأقل؛ أى إن ارتفاع الحرارة يشجع تلك الجراثيم على الإنبات.

وبصفة عامة، نلاحظ أن جراثيم الفطريات أكثر تحملاً للحرارة من الميسليوم، وكلاهما يتأثر أكثر بالحرارة الرطبة moist heat؛ بالمقارنة بالحرارة الجافة. كما أن جراثيم بعض الفطريات تموت إذا تعرضت للتجمد في وجود الماء، ولكن عند تجفيفها وهي على حالة مجمدة (تجفيد)، فإنها تستمر في الاحتفاظ بحيويتها لفترات طويلة.

وتستطيع جراثيم بعض الفطريات الإنبات، بل وتنمو هيفاتها تحت درجات حرارة بالغة الانخفاض، كما في جراثيم الأنواع التابعة للفطر *Cladosporium* والفطر *Sporotrichum* التي تنبت وتنمو هيفاتها على اللحم المتجمد المخزن في درجات حرارة تقل عن درجة التجمد (Cochrane, 1958)

وأيضاً يمكن للخميرة المحبة لارتفاع الأسموزية osmophilic yeasts النمو في عصير البرتقال المركز المحفوظ في درجة حرارة تقل عن عشر درجات تحت الصفر (Ingram, 1951)، وكذلك وجد أن الخميرة القرنفلية اللون pink yeast المعزولة من المحار المجمد frozen oysters يمكنها النمو على درجات حرارة تقل عن ١٨° تحت الصفر (Mc Cormack, 1950).

ومن جهة أخرى، يمكن لبعض الفطريات تحمل درجات الحرارة العالية، بل وبعضها ينمو جيداً إذا تعرض لها، في الوقت الذي تموت فيه أنواع أخرى من الفطريات؛ فعلى سبيل المثال ينمو الفطر *Aspergillus fumigatus* نمواً جيداً على حرارة ٥٠°م، بينما يمكن للفطر *Chaetomium thermophile* النمو حتى ٦٢°م، في حين تتراوح درجة الحرارة المثلى لنموه بين ٤٠ و ٥٠°م.

ولقد وصف الباحثان Cooney & Emerson (1964) ما يمكن أن يطلق عليه اسم «الفطريات المحبة للحرارة العالية thermophilic fungi». ويقتصر استخدام هذا المصطلح على الفطريات التي يمكنها النمو على حرارة ٥٠°م أو أعلى، بينما لا يمكنها النمو على حرارة ٢٠°م أو أقل؛ فإذا ما استطاعت النمو على ٢٠°م أو أقل، أطلق عليها اسم «الفطريات المتحملة للحرارة العالية thermotolerant fungi»؛ مثال ذلك الفطر *Aspergillus fumigatus*.

ولكل نوع فطري درجة حرارة مثلى optimum temperature لنموه، تختلف من نوع لآخر؛ فعلى سبيل المثال تنمو الأنواع التابعة للجنس *Penicillium* في المناطق المعتدلة؛ حيث تتراوح درجة الحرارة المثلى لها بين ٢٠°م و ٢٥°م، بينما تنمو الأنواع التابعة للجنس *Aspergillus* أفضل عند حوالي ٣٠°م؛ لذا فهي تنتشر أكثر في المناطق الدافئة.

ويعتبر ماسبق ذكره تعميماً له شواذه؛ حيث إن حوالي ٩٠٪ من الفطريات الهيفية المستخدمة في الصناعة تنتمي أنواعها إلى الجنس السابقين (*Aspergillus Penicilli* - *um*)، كما أن بعض الأنواع التابعة للجنس *Aspergillus* - مثل الفطر *A. glaucus* - لها درجتا حرارة مثليان، الأولى عند ١٠°م حيث أفضل نمو هيفي وتكوين كونيديات، والثانية عند ٣٠°م حيث أفضل إنتاج للأجسام الثمرية الدورية perithecia للطور الكامل.

ويمكن وجود مثل هذه الحالات الشاذة في كثير من الفطريات الأخرى؛ مثال ذلك بعض الأنواع القليلة التابعة للعائلة *Mucoraceae* التي تتميز بارتفاع درجة حرارتها المثلى؛ كما هي الحال في الفطرين « *Absidia corymbifera* و *A. ramosa* المتطفلين على الحيوانات ذات الدم الحار؛ حيث يصل النمو الفطري إلى أفضل حالاته عند حرارة ٣٧°.

وفي حالات أخرى، تنمو بعض الفطريات الزيجية في مدى واسع من درجات الحرارة؛ مثال ذلك الفطر *Thamnidium elegans*؛ حيث تتراوح درجة الحرارة المثلى لنمو هيفاته بين ٢٥° و ٢٧°. وعلى الرغم من ذلك فإنه يحتاج إلى درجة حرارة منخفضة تصل إلى ٢٦° - ٢٧°؛ لكي يمكنه التكاثر جنسيا وتكوين جراثيم زيجية.

٦ - احتياجات الرطوبة:

تنمو بعض الفطريات نموا جيدا عند رطوبة نسبية أعلى من ٩٥٪. وبصفة عامة.. يمكن مشاهدة كثير من الفطريات النامية على المواد العضوية في الطبيعة ما دامت الرطوبة النسبية عالية. ويكفي ارتفاع رطوبة الجو لكي تنمو الهيفات الفطرية على سطح المواد العضوية الجافة، دون أن تتخلل هذه الهيفات المادة العضوية إلا إلى سنتيمترات قليلة.

ويمكن لبعض الفطريات - خاصة تلك الأنواع المصاحبة للمواد المخزونة - مثل الأنواع التابعة لمجموعة *Aspergillus glaucus* - النمو تحت ظروف الرطوبة النسبية المنخفضة، بينما هناك فطريات أخرى، تعرف باسم الفطريات المحبة للجفاف *xerophiles* يمكنها النمو في نسبة رطوبة منخفضة إلى حد ما تتراوح بين ٦٥٪ و ٧٥٪.

كما تعمل زيادة الضغط الأسموزي *osmotic perssure* للمحاليل الغذائية التي تنمو فيها الأحياء الدقيقة على تثبيط نموها؛ وهذا يشمل الفطريات بطبيعة الحال. إلا أن هناك بعض الفطريات التي يمكنها تحمل الضغوط الأسموزية العالية؛ وهي

تعرف باسم «الفطريات المحبة لارتفاع الأسموزية osmophiles»؛ فإذا كانت مثل هذه الفطريات متخصصة في تحمل التركيزات العالية من ملح كلوريد الصوديوم، أطلق عليها اسم الفطريات المحبة للملوحة halophiles.

وبالإضافة إلى ما سبق، توجد مجموعة أخرى من الفطريات، تمثل معظمها أنواعاً ممرضة للنبات، تحتاج في نموها إلى وجود بعض الماء الحر لإنبات جراثيمها. ولقد وجد أن بعضاً من هذه الفطريات تستكمل دورة حياتها في الماء، والبعض الآخر يحلل الخشب المغمور في الماء ويتجرثم عليه، وخاصة كتل الخشب المغمورة على شواطئ البحار.

٧ - طبيعة النمو الفطري :

حيث إن الفطريات غير ذاتية التغذية heterotrophs، فإنها قادرة على النمو في مدى واسع من البيئات؛ حيثما تتوافر مصادر كربونية عضوية صالحة للتغذية عليها. ومن هذه الفطريات أنواع يمكنها النمو على المركبات الكربونية الناتجة من تحلل الحيوانات الميتة، وكذلك النباتات الميتة. كما تنمو الفطريات متطفلة أو متبادلة المنفعة مع غيرها من الأحياء؛ ومثال ذلك الميكوريزا مع جذور الأشجار والأشنيات مع الطحالب.

وتتميز الفطريات بتكوينها لنظام هيفي hyphal system، قادر على اختراق المواد التي تنمو عليها هذه الفطريات. كما يجب أن تتوافر العناصر الغذائية للفطريات بصورة دائمة؛ حتى يمكنها امتصاصها عن طريق هيفاتها. وفي بعض الحالات يمكن لهذه الهيفات إذابة المواد الصلبة عن طريق إفراز الإنزيمات الخارجية-extracellular enzymes والتغذية - بعد ذلك - على نواتج التحلل الإنزيمي. ويؤدي هذا النشاط الفطري إلى زيادة قدرة الفطريات على النمو وتحليل المركبات العضوية المعقدة؛ سواء أكان مصدرها نباتياً أم حيوانياً.

وحتى الآن لم يحظ التوزيع الجغرافي للفطريات - خاصة الفطريات الصغيرة

الحجم **microfungi** - بالاهتمام اللائق، بالمقارنة بالفطريات الكبيرة الحجم **macro fungi** ذات الثمار الكبيرة؛ مثل فطريات عيش الغراب؛ سواء المأكولة أم غير المأكولة **mushrooms & toadstools**، إلا أن هناك مواطن خاصة **specific habitats** تتوافر فيها ظروف مناسبة لانتشار الفطريات؛ مثل المناطق الاستوائية، والمعتدلة.

وهناك مجموعة من الظروف البيئية المحددة لنمو الفطريات وانتشارها، وعلى رأسها توافر الماء والمركبات العضوية ودرجة الحرارة ورقم حموضة الوسط. وعلى الرغم من تباين احتياجات الأنواع المختلفة من الفطريات غير الذاتية التغذية للنمو والتكاثر في بيئة ما، فإن هذه الاحتياجات تعد قليلة نسبياً، ويمكن توافرها في أماكن كثيرة من العالم، سواء على اليابسة، أم في الوسط المائي.

وليس من العجيب أن نجد فطريات نامية على خشب الأثاث المعامل بالطلاء، أو حتى على الأسوار الحديدية؛ وفي مثل هذه الحالات، فإن ما يتوافر لتغذية الفطر قليل للغاية. وكذلك الحال عند عزل الفطريات في المعمل، فإننا نستخدم - عادةً - بيئة الآجار المائي **plain - agar** التي تترب من ماء الصنبور والآجار. وحيث إن معظم الفطريات لا يمكنها تحليل الآجار والاستفادة منه غذائياً كمصدر للكربون، فإن المتاح في هذه البيئة لتغذية الفطريات ضئيل.

ومن النادر أن تنمو مستعمرة فطرية في الطبيعة على مادة ما بصورة نقية، ولكن من المألوف مشاهدة نموات متداخلة لأحياء دقيقة، قد يكون بعضها نشيطاً، والبعض الآخر في حالة سكون؛ وعلى ذلك فإن مثل هذه البيئة - التي تنمو فيها مجموعة من الأحياء تؤثر فيها وتتأثر بها - توصف بأنها البيئة المحدودة **micro - environment**؛ تمييزاً لها عما يحيط بها من بيئات أخرى، تختلف هي عنه في المحتوى الغذائي ورقم الحموضة والتهوية وغيرها من العوامل المؤثرة في النمو.

ولا يجب إغفال تأثير درجة الحرارة على نمو الفطريات على المواد المتاحة بالطبيعة، حيث إن مثل هذه المواد تكون مغطاة بنموات كثيفة من الأحياء الدقيقة التي يتوقف

نشاطها على درجة الحرارة السائدة؛ فإذا توالى تغير درجة الحرارة خلال اليوم الواحد، تغير نشاط تلك الأحياء الدقيقة - ومنها الفطريات بطبيعة الحال - طبقاً لذلك؛ حيث تختلف درجة الحرارة المثلى من كائن إلى آخر.

وكذلك الحال فى رقم حموضة الوسط؛ الذى يؤثر فى نشاط الأحياء الدقيقة القاطنة فيه. فلكل كائن حى رقم الحموضة المناسب لأقصى نشاط له optimal pH value. ومن المعروف أن الفطريات يزداد نشاطها فى الوسط الحامضى، ولكن هذا لا يعنى - بالضرورة - توقّف نشاط الفطريات فى الوسط القلوى؛ حيث إن بعض الفطريات المحللة للسيليلوز يزداد نشاطها عند رقم حموضة عالٍ، قد يصل إلى ٨,٥.

٨- الظروف البيئية

معظم الدراسات البيئية *ecological studies* التى أجريت على الفطريات تم إجراؤها باستعمال التربة كمادة لإنماء الفطر عليها. وحيث إن مثل هذه الأنواع الفردية من الفطريات نادراً ما تنمو وحيدة على المواد الطبيعية، وإنما تكون - عادةً - متداخلةً ومتزاملةً مع غيرها من الأنواع الأخرى للفطريات والبكتيريا بل والطحالب أيضاً فى المناطق المعرضة للضوء، فإن مثل هذه الدراسات البيئية لم تبين الواقع الذى تعيشه أنواع محددة من الفطريات فى الطبيعة.

ولا تقتصر علاقة الفطريات بالطبيعة فى علاقة تلك الفطريات بغيرها من الأحياء الدقيقة، بل إن الفطريات تتداخل مع نشاط أحياء أخرى كثيرة؛ مسببةً منافع لاحصر لها، أو أضراراً شديدة الوطأة؛ مثال ذلك علاقاتها مع النباتات الراقية، وأيضاً مع الحشرات، والنيماطودا، والأكاروس، والحلم.

وعندما تنمو مستعمرة لأحد الفطريات على مادة ما، فإن هيفات الفطر وتراكيبه الأخرى تشغل حيزاً من هذه المادة؛ مكونةً مستعمرةً فطريةً *fungal colony*، ولكن هذا لا يعنى خلو هذه المستعمرة من أحياء أخرى كانت موجودةً قبل نمو هيفات الفطر؛ ويعنى ذلك أنه لا توجد مزرعة نقية *pure culture* لأى كائن حى فى الطبيعة.

فإذا كانت المواد الموجودة في الطبيعة معرضة للهواء، تساقطت عليها آلاف الجراثيم الفطرية الموجودة في الهواء، والتي تبدأ في الإنبات، ثم النمو إذا كانت رطوبة المادة تسمح بذلك. وكذلك الحال في المواد الملامسة للتربة، فإن كثيراً من فطريات التربة النامية ستجد في هذه المادة الجديدة مصدراً إضافياً للغذاء، وتشرع في النمو عليها.

وتختلف الفطريات - فيما بينها - من حيث تعاقب مهاجمتها للمواد الموجودة في الطبيعة؛ فعلى سبيل المثال هناك ما يسمى بـ «الفطريات المحبة للسكريات sugar fun-gi»؛ التي تتميز بنموها السريع وتجترمها على المواد السكرية البسيطة القابلة للذوبان في الماء، وكذلك على المواد النيتروجينية. فإذا ما استهلكت هذه المواد الغذائية، قلَّ نشاط هذه الفطريات، وظهرت فطريات أخرى يمكنها الاستفادة من المركبات الأخرى الشديدة التعقيد؛ مثل الهيميسليلوز، والسيليلوز؛ وذلك من خلال إفرازها للإنزيمات المحللة الخارجية extracellular enzymes .

وعادةً ما يصاحب نمو هذه الفطريات المحللة للمركبات المعقدة فطريات أخرى ثانوية secondary fungi، تتغذى على بعض السكريات البسيطة الناتجة من تحليل المركبات المعقدة؛ وهذا يسبب صعوبة عند عزل المجموعة الأولى من الفطريات في المعمل؛ باستعمال بيئات غذائية تحتوي على سكريات بسيطة، حيث سرعان ما تنمو الفطريات الثانوية المصاحبة لها، وتكون جراثيمها، دون أن تعطى الفرصة للفطريات المحللة للمركبات المعقدة لكي تنمو هي الأخرى.

ويتضح مما سبق أن معظم المواد الموجودة في الطبيعة يتعاقب عليها نشاط الأحياء الدقيقة؛ مثل الفطريات، والبكتيريا، إلا أن الفطريات تتميز بقدرتها على اختراق المواد التي تنمو عليها بواسطة هيفاتها، كما أن الفطريات يمكنها النمو تحت ظروف انخفاض الرطوبة النسبية حتى ٦٥٪، بينما نادراً ما تنمو البكتيريا على سطوح المواد عندما تنخفض الرطوبة النسبية عن ٩٥٪.

٩. تأثير الفطريات الأخرى:

نظراً لتداخل نمو الأنواع المختلفة من الفطريات في الطبيعة فيما بينها، وأيضاً مع غيرها من الأحياء الدقيقة الأخرى كالبكتيريا التي تشاركها بيئتها، فإن هذه الفطريات تتأثر بما يجاورها من أحياء بطرقٍ مختلفة.

ففي الحالات البسيطة، تتنافس هذه الأحياء الدقيقة على المواد الغذائية المتاحة، وينتج عن ذلك عدم قدرة بعض الأنواع على المنافسة؛ فتكف عن النمو والنشاط، بينما تنمو أنواع أخرى وتزدهر. ومن الصعب التكهن بأي من الفطريات ستكون له السيادة عند نموه في بيئة تعج بالأحياء المختلفة؛ وذلك من خلال معرفتنا بمعدل نموه على البيئات الغذائية في المعمل؛ حيث إن النمو السريع للفطريات في المزارع النقية لا يعنى - بالضرورة - قدرتها على منافسة غيرها من الأحياء الدقيقة للحصول على العناصر الغذائية، وخاصة إذا عز وجودها.

وفي حالات أخرى تنمو بعض أنواع الفطريات بصورة متداخلة، ينتج عنها نموات غير طبيعية؛ مثال ذلك تكوين تراكيب جرثومية متقزمة أو غير مألوفة . وقد تستمر النموات الهيفية عقيمة؛ أى لا ينتج منها أية جراثيم. وعلى ذلك فإنه من غير المأمون استخدام تخضيرات من فطريات تنمو تحت مثل هذه الظروف بغرض تعريفها أو دراسة صفاتها التركيبية.

ولا يقتصر التنافس بين الأحياء الدقيقة على مصادر الغذاء، ولكن هناك أيضاً أحياء يضاد بعضها بعضاً؛ فعند نمو بعض أنواع الفطريات بالقرب من مستعمرات فطرية أخرى، فإننا نلاحظ وجود مناطق دائرية حول مستعمراتها خالية من النمو؛ نتيجة لتثبيط نمو الأحياء الأخرى من حولها؛ ويدل ذلك على إفراز مثل هذه المستعمرات الفطرية لمادة سامة *toxic substance* تنساب خلال بيئة النمو. وتعرف مثل هذه المواد بـ «المضادات الحيوية *antibiotics*» .

وعلى العكس مما سبق، فإن وجود نمواتٍ فطريةٍ لفطرٍ ما قد يعمل على تشجيع نمو ونشاط فطرٍ آخر يشاركه بيئته وينمو بجواره. وعادةً ما تنمو فطريات مختلفة على مادةٍ غذائيةٍ معينة، مما يعرض هذه المادة إلى نموات هذه الفطريات التي تفرز إنزيماتٍ مختلفة؛ فعلى سبيل المثال يفرز أحد الفطريات إنزيماتٍ تحلل المركبات المعقدة مثل السيليلوز واللجنين؛ مما ينتج عنه مركبات بسيطة تصلح لتغذية مجموعةٍ أخرى من الفطريات، بينما تستفيد مجموعة ثالثة من نواتج التمثيل الغذائي للفطريات السابقة؛ وعلى ذلك تتحلل المركبات المعقدة في الطبيعة على عدة مراحل؛ نتيجة تبادل نشاط الكائنات الحية الدقيقة عليها.

وهناك حالات أخرى يُخلَق فيها أحد الفطريات بعض المواد المشجعة للنمو *growth substances* بكميةٍ تفيض عن احتياجاته، وقد تكون ضروريةً لنمو أنواعٍ أخرى من الفطريات؛ حيث يطلق على هذه الظاهرة «Heald-Pool effect»؛ نسبةً إلى العالمين Heald & Pool (1908) اللذين لاحظا ذلك التأثير لأول مرة.

ولقد درس العالمان السابقان طبيعة نمو الفطر *Melanospora (Sordaria) pam-peana* على البيئات الغذائية في المعمل، فوجدا أن نمو هذا الفطر في مزرعةٍ نقيةٍ يكون ضعيفاً، ولا يكون أجساماً ثمريةً أسكيةً دورقيةً *perithecia*، ولكن عند نموه في مزرعةٍ مختلطةٍ مع الفطر *Fusarium moniliforme*، فإن الفطر الأول ينمو بصورةٍ جيدةٍ مكوناً أجسامه الثمرية على البيئة.

وعلل الباحثان السابقان هذه الظاهرة بأن الفطر *M. pampeana* لا يكون أجسامه الثمرية الدورقية عندما ينمو على بيئةٍ غذائيةٍ لا تحتوي إلا على أملاح وسكر، ولكن يتم تشجيعه على النمو وإنتاج الأجسام الثمرية عندما ينمو في بيئةٍ مختلطةٍ مع أحد الفطريات المترمة أو البكتيريا؛ وذلك لاحتياج هذا الفطر إلى ثيامين *thiamin* وبيوتين *biotin* لإنتاج أجسامه الثمرية، ويمكنه الحصول عليهما من أحد الأحياء الدقيقة المكونة لمثل هذه المواد المنشطة للنمو *growth - substances*.

ومن العلاقات الأخرى الموجودة بين الفطريات وبعضها التطفل *parasitism*، حيث تُهاجم الفطريات الراقية ذات الثمار اللحمية الكبيرة (مثل فطريات عيش الغراب) بواسطة أنواع عديدة من الفطريات الصغيرة الحجم *micro-fungi*، كما أن بعضاً من هذه الفطريات المتطفلة على ثمار عيش الغراب تتعرض هي الأخرى لأن يتطفل عليها فطريات مختلفة تحت ظروف المعمل.

وعلى سبيل المثال، فإن المزارع الفطرية غير النقية للأنواع التابعة للجنس *Mucor* التي يتم عزلها من الروث، تُهاجم عادة بأنواع من الجنس *Chaetocladium*، كما أن هناك أعداداً لا بأس بها من الفطريات التابعة لرتبة الميكورات *Mucorales* تتطفل عليها أنواع من الجنس *Piptocephalis*.

وهناك مثال آخر على حالات التطفل بين الفطريات بعضها وبعض، مثال ذلك المرض البنسليومي *the Penicillium disease* الذي يصيب الفطر *Aspergillus niger*، حيث إن الفطريات المتطفلة في هذه الحالة تنتمي إلى قسم *Biverticillata-Symmetrica*؛ وهي عادة للفطر *P. rugulosum* أو الأنواع الشديدة القرابة منه.

وتظهر أعراض الإصابة في هذه الحالة على صورة نمو هيفات الفطر المتطفل بكثافة على مثانة (رأس *head*) الفطر *Aspergillus*؛ مكونةً عناقيد من الحوامل الكونيدية ذات شكل الفرشاة واللون الأخضر الداكن، وتسبب قتل الفطر العائل. وهناك - بالإضافة إلى ماسبق - فطريات أخرى تُهاجم كونيديات بعض الفطريات وتتغذى عليها؛ ومن أمثلة هذه الفطريات المتطفلة الفطر *Gliocladium roseum*.

الباب الثالث

تغذية الفطريات فـي بيئـةـا الطـبـيـعـيـة

تغذية الفطريات في بيئتها الطبيعية

١- مقدمة :

تعتبر الفطريات - بصفة عامة - إجبارية التغذية الكيميائية غير الذاتية-obligate che-moheterotrophs. وحيث إنها لا تستطيع تمثيل غذائها بنفسها؛ لذلك فهي تحتاج إلى مواد غنية في الطاقة لتتغذى عليها، وتحصل منها على احتياجاتها من الطاقة ومن المواد الأولية التي تبنى منها كتلتها الحيوية.

وتنتج الفطريات - أثناء نموها - مدى عريضاً من الإنزيمات الخارجية-extracellular enzymes، وخاصة الإنزيمات المؤكسدة oxidases، وإنزيمات التحليل المائي hydrolases. ويمكن للفطريات الاستفادة من معظم المواد العضوية المتوفرة في البيئة من حولها؛ بما فيها السيليلوز، والشيتين، والنشا، والسكريات، والهيميسيليلوز، واللجنين.

وتعتبر الكربوهيدرات - عادةً - أكثر مصادر الكربون المتاحة للفطريات؛ حيث تعمل الفطريات على التغذية عليها؛ فتحصل منها على الطاقة، كما تعمل نواتج التمثيل الغذائي للكربوهيدرات على إنتاج مركباتٍ وسطيةٍ أخرى يتم استخدامها في بناء تراكيب فطرية جديدة.

وحيث إن الفطريات يمكن اعتبارها نموذجاً تقليدياً للكائنات الحية غير الذاتية التغذية، فإن تمثيلها الغذائي - في أساسه - متطابق إلى حدٍ بعيدٍ مع التمثيل الغذائي لغيرها من الأحياء غير الذاتية التغذية؛ مثل البكتيريا التي تسلك هذا السلوك.

وهناك مصادر كربونية أخرى يمكن للفطريات استخدامها في التغذية؛ مثال ذلك الكحولات، والهيدروكربونات، والجليسرول، والنشا.

وتحصل الفطريات على احتياجاتها من النيتروجين - غالباً - فى صورة أمونيا، فى حين أن معظمها يمكنه الاستفادة من النترات كمصدرٍ للنيتروجين. ومن أهم الفطريات الصناعية فطر الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*؛ وهو لايمثل غيره من الفطريات؛ فهو لا يستطيع الاستفادة من النترات كمصدرٍ للنيتروجين.

وتعتبر النترات - بصفة عامة - سامةً للفطريات، وعلى الرغم من ذلك فإن بعض الفطريات تستعملها كمصدرٍ للنيتروجين وتمثلها غذائياً. ومن مصادر النيتروجين الأخرى التى تستفيد منها الفطريات اليوريا *urea*، وهيدروكسيل الأمين *hydroxyla-* mine، بالإضافة إلى الأحماض الأمينية *L-amino acids*، والبيتيدات *peptides*، بينما تعتبر الأحماض الأمينية *D-amino acids* -مع ذلك- مصدراً فقيراً للنيتروجين، وأحياناً تكون سامةً للفطريات.

ويعتبر هضم البروتين من أهم صفات عديدٍ من الأطعمة الشرقية المتخمرة ذات القوام الصلب. ويستعمل فى ذلك إنزيمات خارجية محللة للسيليلوز لبعض أنواع الفطريات (مثل: *Mucor*، *Aspergillus*)؛ التى تحلل الروابط الببتيدية بين الأحماض الأمينية المتتابة فى جزيء البروتين تحليلاً مائياً، منتجةً بيتيدات معقدةً *polypeptides*، وبيتيدات أقل تعقيداً *oligopeptides*، وأحماضاً أمينية *amino acids*. ويمكن للفطر استكمال تحليله لهذه المركبات السابقة؛ حتى تتكون الأمونيا التى يمكنه الاستفادة منها وتمثيلها غذائياً.

وتنمو الفطريات -عادةً- فى المعمل على بيئاتٍ غذائيةٍ محددةٍ التركيب، تحتوى على سكرياتٍ مثل الجلوكوز والسكروز، وقد تنمو الفطريات على بعض المركبات المعقدة مثل السيليلوز. وحتى وقتٍ قريبٍ، استعمل علماء الفطريات بعض البيئات الغذائية المعقدة غير المحددة التركيب لإنماء الفطريات؛ ومثال ذلك بيئة مستخلص البطاطس والدكستروز (*potato-dextrose agar (PDA)*، وبيئات مستخلص الخضروات.

وعادةً ما يستخدم النتروجين غير العضوى فى إمداد البيئات الغذائية بمصدر نتروجينى فى صورة نشادر، أو نترات، أو أميدات، أو أحماض أمينية. وقد يستعمل غاز الأمونيا كمصدر للنتروجين لبعض الفطريات المستخدمة فى التخمرات الصناعية.

وبالإضافة إلى ماسبق، فهناك بعض العناصر الغذائية الكبرى التى تحتاج إليها الفطريات فى نموها ونشاطها؛ مثال ذلك الفوسفور، والكبريت، والبوتاسيوم، والمغنسيوم، بينما توجد عناصر صغرى مثل الزنك والنحاس والمولبدنم، بالإضافة إلى بعض الفيتامينات التى تحتاج إليها الإنزيمات الفطرية أثناء عملها، وخاصةً تحت ظروف النمو المتزايد للفطريات.

٢- تحليل المركبات المعقدة؛ خاصة السيليلوز واللجنين:

يمكن القول إن قدرة الفطريات على تحليل المركبات البسيطة والمعقدة التركيب هى واحدة من الصفات الفسيولوجية الرئيسية الهامة التى تميز هذه الكائنات الحية الدقيقة الشائعة الانتشار فى البيئة .

جدول (٣): المركبات المعقدة التى يمكن تحليلها بواسطة الخمائر (Wainwright 1992).

المادة	نوع فطر الخميرة	الإنزيم المفرز
١- نشا	<i>Saccharomyces diastaticus</i>	Glucoamylase
٢- سيليلوز	<i>Aureobasidium</i>	Cellulase
٣- سيلو دكستريانات	<i>Torulopsis</i>	Exo (1.4) β - glucosidase
٤- سيلوبيوز	<i>Brettanomyces claussenii</i>	β - glucosidase
٥- إنيولين	<i>Kluyveromyces</i>	Inulinase
٦- بكتين	<i>Aureobasidium</i>	Pectinase, pectin lyase
٧- زيلان	<i>Cryptococcus</i>	Endo (1.4) β - xylanase

هذه القدرة على تحليل المركبات العضوية تجعل الفطريات دائمة النشاط في البيئة، بصرف النظر عن نوع المواد العضوية المتاحة حولها والتي تنمو عليها؛ محللة إياها ومستفيدة منها في الحصول على الطاقة وعلى المواد العضوية الأولية التي تحتاج إليها في النمو، كما أنها -خلال ذلك- تعيد تدوير هذه المخلفات في الطبيعة.

ولقد استفاد الإنسان من هذا النشاط الحيوي للفطريات، وقدرتها على تحليل مختلف المركبات العضوية في تقنيات حيوية حديثة تعتمد عليها عدد من الصناعات التي تستخدم فيها مثل هذه الفطريات.

ويعتبر السيليلوز أهم المركبات المعقدة النباتية؛ حيث يكون حوالي ٤٠٪-٥٠٪ من مكونات الجدار الخلوي للنباتات الناضجة. ويتركب السيليلوز من عديد من جزيئات الجلوكوز التي ترتبط بعضها ببعض في سلاسل طويلة برابطة من النوع بيتا ١-٤ [B (1-4)].

ويتركب جزيء السيليلوز من سلاسل طويلة مستقيمة (غير متفرعة)، تحتوي كل سلسلة منها على حوالي ثلاثة آلاف جزيء جلوكوزاً، قد تكون موجودة عشوائياً؛ مكونة سيليلوزاً غير متبلور *amorphous cellulose*، أو قد تكون موجودة في صورة ليفات دقيقة مندمجة؛ مكونة سيليلوزاً متبلوراً *crystalline cellulose*.

ويتم تحليل السيليلوز بواسطة إنزيمات شائع إنتاجها بواسطة الفطريات؛ منها إنزيم *endo-β-glucanase*، وإنزيم *β-glucosidase*؛ حيث يحلل الإنزيم الأول سلاسل السيليلوز إلى وحدات أصغر؛ مثل السيللوبيوز *cellobiose* (يحتوي على وحدتين *dim-er*) والسيللوترىوز *cellotriose* (يحتوي على ثلاث وحدات *trimer*). وعند هذه المرحلة يتم تحليل السيللوبيوز بواسطة الإنزيم الثاني؛ حيث ينفرد الجلوكوز الذي يصبح متاحاً لامتصاصه داخل خلايا الفطر، ثم تمثيله غذائياً كمصدر للكربون.

ويتوفر السيليلوز المتبلور في الطبيعة؛ حيث يتم تحليله عن طريق إنزيم *exo-β-glu-canase* الذي يعمل على انشقاق وحدتي سكر متتاليتين (سيللوبيوز) من نهاية

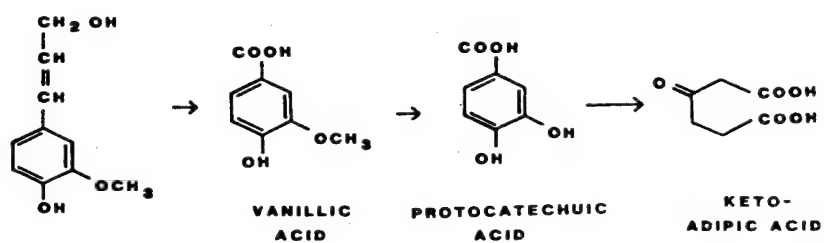
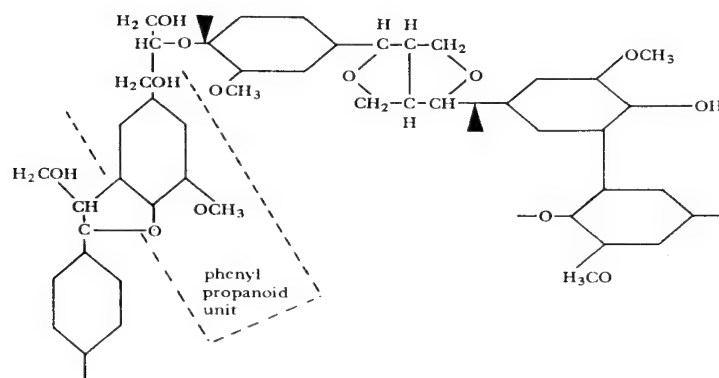
سلاسل السيليلوز. وهناك قليل من الفطريات القادرة على إفراز هذا الإنزيم، بالمقارنة بالإنزيمين السابقين .

وتنتشر الفطريات المحللة للسيليلوز بوفرة في الطبيعة، وأكثرها فاعلية هي تلك الأنواع التابعة للأجناس *Trichoderma* ، *Myrothecium* ، *Fusarium* ، *Chaetomium* . ويتكون إنزيم cellulase من معقد إنزيمي؛ حيث يتم تخليقه عند وجود مادة التفاعل؛ وهي السيليلوز.

ويجىء اللجنين في المرتبة الثانية بعد السيليلوز بالنسبة إلى المواد الطبيعية المعقدة الشائع وجودها على سطح الأرض، ومع ذلك فإنه من الصعب تحليله بالمقارنة بالسيليلوز. ويعتبر جزئ اللجنين معقد التركيب ثلاثي الأبعاد؛ حيث يتكون من ثلاثة أنواع من الوحدات البنائية الأساسية؛ هي: كحولات السيناميل cinnamyl alcohols ذات التركيب المحتوى على فنيل - بروبان (C6-C3) phenyl-propane ؛ حيث يتم ارتباط الحلقات - بعضها ببعض - برابطة (-C-C-) أو (-C-O-C-) سواء عن طريق الارتباط من ناحية سلاسل البروبان، أم عن طريق الارتباط بين حلقة وسلسلة جانبية. وأحياناً يتم ارتباط أكثر من رابطة واحدة بين أى وحدتين بنائيتين.

لذلك نلاحظ أن جزئ اللجنين شديد التعقيد؛ ولذا فليس من المثير للدهشة أن قليلاً من الأحياء الدقيقة - وغالباً من الفطريات والأكتينومايسيتات - هو الذى تكون لديه القدرة على إنتاج الإنزيمات اللازمة لتحليله.

ويبدو أن عملية هدم اللجنين تشمل آليتين، يتم فى الأولى تحليل الجزئ إلى وحدات أقل تعقيداً، بينما فى الثانية يتم كسر السلاسل الجانبية والروابط المزدوجة فى موضعها الأصلي *in situ* . ويدل ظهور المركبات - مثل حمض الفانيليك vanillic acid، ومركب coniferaldehyde - خلال المراحل الأولى من تحليل اللجنين، على أن الآلية الأولى هي الأكثر احتمالاً. كما أظهرت الدراسات الحديثة تكسر التركيب الحلقى فى اللجنين.



شكل (١١): التركيب الكيميائي للجنين Lignin ، ثم مراحل تحليله .

وتبدأ سلسلة تحليل اللجنين بإزالة مجموعة المثيل demethylation؛ مما ينتج عنه أحماض فينولية ثنائية diphenolic acids؛ تحتوي على مجموعتي هيدروكسيل متجاورتين.. وعندئذ يتم فتح الحلقات عن طريق إنزيمات الأكسدة dioxygenase؛ لتعطى سلسلة مستقيمة (أليفاتية) aliphatic chain متصلة باللجنين، وتنفصل هذه السلاسل الأليفاتية من المركب المعقد بواسطة إنزيم أكسدة oxygenase enzyme؛ مثل إنزيم laccase، ويتم تحليل السلاسل الجانبية الأليفاتية بواسطة الأكسدة.

وتعتبر الصفة المميزة لتحليل اللجنين هي مراحل الأكسدة العالية؛ حيث يعتبر الباحثون الذين درسوا مراحل تحليل اللجنين أن هذا الجزيء يتحطم عن طريق تفاعلات الأكسدة. ويطلق على الفطريات المحللة للجنين اسم «فطريات العفن الأبيض white rot fungi».

٣- النواحي التطبيقية للأنظمة المحللة للجنين :

توصف الفطريات المحللة للجنين بأنها تلك المسببة للأعفان البيضاء.. ونظراً لقدرتها على تحليل اللجنين، فإنها تستخدم في عديد من التقنيات الحيوية المختلفة المفيدة للإنسان؛ سواء بطريقة مباشرة، أم غير مباشرة.

وفيما يلي بعض الاستخدامات التطبيقية لمثل هذه الفطريات؛ مثال ذلك الفطر *Phanerochaete chrysosporium* :

١- إزالة اللجنين حيويًا :

يعتمد على الفطريات المحللة للجنين بصورة أساسية في إنتاج لباب الخشب wood pulp المستخدم في صناعة الورق. ولقد تقدمت هذه الصناعة تقدماً كبيراً؛ وذلك بخفض الطاقة اللازمة لتجهيز اللباب ميكانيكياً؛ وذلك عن طريق استخدام الفطريات المحللة للجنين وإضافتها إلى الخشب المبشور. وتستخدم - عادة - طفرات من بعض هذه السلالات الفطرية؛ تتميز بقدرتها المحدودة على تحليل السيليلوز، بينما تكون قدرتها على تحليل اللجنين عالية.

ب - تبييض لباب الخشب :

تلجأ بعض مصانع الورق -حديثاً- إلى استخدام التبييض الميكروبي بدلاً من استخدام الكيماويات فى تبييض عجينة لباب الخشب المستخدمة فى صناعة الورق؛ حيث يتم الحصول على ورقٍ ناصع البياض أملس لامع عالى الجودة، بطريقة حيوية غير ملوثة للبيئة.

ج - معالجة المياه المحتوية على مخلفات لجينية :

يمكن لبعض الفطريات تحليل سلفونات اللجنين lignin sulphonates، وكذلك مشتقات اللجنين المتخلفة فى مياه الصرف الصحى والناجمة من مصانع الورق؛ مما يقلل من تلوث البيئة.

د - تحويل اللجنين إلى مواد كيميائية مفيدة:

يعتبر هذا الاتجاه من الاتجاهات العلمية الحديثة المفيدة للبيئة، ويعتمد على استعمال فطريات معينة قادرة على إنتاج مواد ذات أهمية اقتصادية كنواتج ثانوية من عملية التمثيل الغذائى لللجنين.

هـ - استراتيجيات تغذية الفطريات فى الطبيعة:

تنمو الفطريات -هادة- فى البيئة؛ إما مترمة على المخلفات العضوية، وإما متعايشة مع غيرها من الكائنات الحية الأخرى من حولها، أو قد تتطفل عليها. وتلعب الفطريات المترمة مع البكتيريا والمفصليات الأرجل الصغيرة microarthropods دوراً هاماً فى تحليل المركبات الكربوهيدراتية المعقدة فى الطبيعة؛ ومثال ذلك أوراق الأشجار وفروعها، وكتل الأخشاب الميتة المتساقطة.

وتعتبر الأحياء الدقيقة المترمة السابقة ذات دور بارز فى تحليل المركبات النيتروجينية المعقدة إلى نشادر؛ مما يسهل امتصاصها بواسطة جذور النبات.

ومن ناحية أخرى تلعب الفطريات المتطفلة *parasitic fungi* دوراً هاماً كممرضات للمحاصيل الاقتصادية، وتسبب أضراراً مختلفة للثمار والحبوب المخزونة، كما تسبب الفطريات أمراضاً للإنسان والحيوان، إلا أن بعض الفطريات تفرز مواد تقلل من عدم تقبل الجسم للأعضاء الغريبة؛ مما يسهل عمليات نقل الأعضاء.

وتشارك الفطريات حياة نوعين من النباتات؛ مكونةً معها نمطاً من تبادل المنفعة؛ حيث يشارك بعضها حياة جذور النباتات الراقية؛ مكونةً ما يسمى بـ «الجذور الفطرية» (*mycorrhiza*)، بينما يشارك البعض الآخر من الفطريات حياة بعض الطحالب مكونةً ما يسمى بـ «الاشنيات» (*lichens*).

وتتكون الميكوريزا من تركيب معقد يحتوى على هيفات الفطر وجذور النباتات الراقية، حيث تبدو هذه المشاركة إما داخلية *endomycorrhiza*، وإما خارجية *ec-tomycorrhiza*؛ ففي النوع الأول، تتكون هيفات الفطر بأعداد كبيرة على السطح الخارجى للجذر؛ ممتدة لمسافات بعيدة عنه، بينما تتخلل بعض هذه الهيفات طبقة القشرة؛ مكونةً تركيبات فطرية داخل خلاياها.

ويظهر على جذور بعض الأوركيدات *orchids* نوع من هيفات فطريات الميكوريزا الداخلية التابعة لطائفة الفطريات البازيدية. ويشاهد هذا النمط من الميكوريزا -أيضاً- فى جذور بعض النباتات النجيلية ذات الأهمية الاقتصادية العالية.

أما فى الميكوريزا الخارجية، فإن الفطر يكون غلالةً تتخلل هيفاتها الجذور الجانبية؛ وخاصة فى أشجار الغابات؛ مثل: البلوط، والصنوبر. وتنتمى عديد من هذه الفطريات إلى طائفة الفطريات البازيدية.

وتحصل فطريات الميكوريزا - بصفة عامة - من النباتات التى تنمو على جذورها أو داخلها - على نواتج التمثيل الضوئى ومشتقاتها الحيوية الهامة التى لا يمكن لهذه الفطريات تكوينها بنفسها، بينما يمد الفطر شريكه النباتى بالعناصر الغذائية الهامة التى تعجز جذور النباتات عن امتصاصها بنفسها من التربة؛ مثل الفوسفور.

وقد تساعد فطريات الميكوريزا النبات في حصوله على احتياجاته المائية، وخاصة في المناطق الجافة وشبه الجافة من العالم. وتعمل هيفات فطريات الميكوريزا على الانتشار بين حبيبات التربة في مناطق تبتعد كثيراً عن سطح الجذور؛ حيث تمتص منها الماء، وتنقله إلى قشرة الجذور مباشرة، في الوقت الذي تمتد فيه الشعيرات الجذرية إلى مسافات محدودة جداً عن سطح الجذور، ولا تستفيد إلا بما يحيط بها من ماء حر.

وفي حالة الأشنيات، يشترك في هذا التركيب المعقد لها معاشر طحلبى *phycobiont* ومعاشر فطرى *mycobiont*. ويكون الفطر -عادة- حوالي ٩٠٪ من الوزن الجاف للأشن. وهناك حوالي ١٨ ألف نوع من الأشنيات تم تعريفها، بعضها يكون نموات قشرية على سطوح الأشجار والصخور الرطبة، بينما ينمو البعض الآخر في شكل شجيري. كما تتلون هذه النموات الأشنية بألوان متباينة جميلة؛ بحيث تظهر في أبهى صورة بين جيرانها من الأحياء الأخرى.

ولقد أظهرت الدراسات الفسيولوجية لطبيعة العلاقة الغذائية بين الفطر والطحلب داخل تركيبهما المشترك (الأشن)، أن نصف ما ينتج عن التمثيل الضوئي للطحلب -تقريباً- يستهلكه الفطر المشارك في غذائه ونموه؛ فإذا ما كان الطحلب نوعاً من الطحالب الخضراء المزرق -والتي تعرف باسم السيانونوباكترى *cyanobacteria*- فإن هذا الطحلب يقوم أيضاً -بالإضافة إلى التمثيل الضوئي، وتكوين المواد الكربوهيدراتية - بتثبيت النتروجين الجوي؛ مكوناً مواد بروتينية يمد بها شريكه الفطرى السعيد الحظ.

ولم تظهر الأبحاث المختلفة حصول الطحلب على فائدة ما من شريكه الفطرى، ولكن - في الحقيقة - فإن اشتراك الفطر والطحلب معاً في حياة متبادلة مكنهما من الحياة في الظروف الصعبة، وتحمل كثير من العوامل البيئية القاسية التي قد تهلك أيّاً منهما إذا نما منفرداً عن شريكه الآخر.

ومن ناحية أخرى، ناقش عديد من الباحثين -مثل Crittenden & Porter (1991) - أهمية المواد التي تنتجها الفطريات المشاركة في تكوين بعض الأشنيات؛ مثال ذلك: الصبغات، والسكريات، والكحولات.

ويمكن استخدام بعض أنواع الأشنيات كغذاء؛ حيث يحتوى الأشن *Citriria isi-rudica* على نسبة عالية من الكربوهيدرات، تصل إلى نصف ما يحتويه حبوب القمح، كما أن بعض أنواع الأشنيات ذات أهمية طبية؛ حيث تستخدم في علاج بعض الأمراض، كالسل، وداء الكلب، بل ويستخدم الأشن *Usnea barbata* لعلاج الصلع. ولقد أوضحت بعض الدراسات الحديثة أن بعض الأشنيات لها قدرة على تضاد نمو بعض الميكروبات الضارة، بينما يمكن لمسحوقها الجاف قتل الحشرات. وهناك بعض أنواع الأشنيات ذات الرائحة العطرية، والتي تستخدم تجارياً لإنتاج أرقى العطور، مثل *Lobaria pulmonaria*.

٥- تباين التمثيل الغذائي في الفطريات :

معظم الفطريات غير ذاتية التغذية الكيميائية *chemoheterotrophs*؛ حيث تسلك في ذلك دروباً شتى؛ فعلى سبيل المثال، هناك عديد من أنواع الفطريات الهيفية يمكنها أكسدة الصور المختزلة من المركبات النيتروجينية، وكذلك أكسدة الكبريت والحديد والمنجنيز؛ وبذلك تشارك -بدرجة محدودة - في مراحل إختزال النترات *de-nitrification*، ولكن بسرعة أقل مما تقوم به البكتيريا.

وعلى الرغم من اشتراك الفطريات في أكسدة تلك الصور المختزلة من المركبات النيتروجينية، إلا أنه ليس من المعروف -على وجه الدقة- الفائدة التي تعود على تلك الفطريات من هذه الأكسدة. إلا أنه -على أية حال- يبدو أن الفطريات تلعب دوراً هاماً في إعادة التوازن البيئي وتدوير المخلفات العضوية، محررة إياها إلى مركبات بسيطة قابلة للاستفادة بواسطة غيرها من الأحياء من حولها.

ولقد أوضحت عديد من الدراسات الفسيولوجية على الفطريات الهيفية أن معظمها يحتاج إلى ظروف هوائية في نموها، إلا أن بعضها يمكنه النمو تحت ظروف قليلة التهوية *microaerophilic conditions*، بينما قليل منها - تشمل في مجملها الأحياء الدقيقة المنتشرة في كرش الحيوانات المجترة - يمكنها النمو تحت ظروف لا هوائية؛ حيث تعتبر مثل هذه الفطريات لا هوائية إجبارياً *obligate anaerobes*.

٦- نمو الفطريات تحت ظروف انخفاض التغذية:

تنمو الفطريات -شأنها في ذلك شأن الأحياء الدقيقة الأخرى- تحت ظروف المعمل على بيئات غذائية تحتوي على كميات كبيرة من العناصر الغذائية. وتحت مثل هذه الظروف ينمو الفطر نمواً جيداً منتجاً نواتج تمثيل غذائي أولية وثانوية بكميات كبيرة.

وتستخدم مثل هذه البيئات الغذائية لإنماء الفطريات المستخدمة خلال مراحل الإنتاج الصناعي للكيميائيات الحيوية والبروتين الميكروبي *single-cell protein*. ومع ذلك، فإن الأبحاث الحديثة توضح أن بعض الفطريات يمكنها النمو في الغياب النسبي للعناصر الغذائية اللازمة لنمو هذه الفطريات؛ حيث يطلق على ذلك اسم *oligotro-phy*.

ويبدو أنه تحت مثل هذه الظروف يمكن للفطريات أن تقوم بالتغذية على مادة عضوية متاحة كمصدر كربوني، والتي قد يكون بعضها عبارة عن مواد متطايرة؛ مثل الإسيبتون، أو تكون غازات مثل الميثان. وبهذه الطريقة يمكن للفطريات الاستفادة من غاز الأمونيا الموجود في الهواء المحيط، وكذلك الاستفادة من بعض العناصر الصغرى والفيتامينات.

وترجع أهمية قدرة الفطريات على النمو -تحت مثل هذه الظروف من إنخفاض التغذية- إلى بقائها وانتشارها في البيئة محتفظة بحيويتها ونشاطها، بينما لا يلعب هذا السلوك دوراً مافى التقنية الحيوية للفطريات المستخدمة في الصناعة.

الباب الرابع

الفطريات كعوامل محللة حيويًا

الفطريات كموامل محللة حيوية

تلعب الفطريات دوراً رئيسياً في هدم وإفساد مدى واسع من المواد المفيدة اقتصادياً؛ حيث تلقى الضوء في هذا الباب على دور الفطريات في تلف المواد غير الغذائية والمواد الغذائية والمنتجات المخزونة. وقد لا يؤدي نمو الفطريات على مثل هذه المواد إلى تحليلها تماماً، ولكنها -على الأقل- تقلل من جودتها أو صلاحيتها للاستهلاك الآدمي.

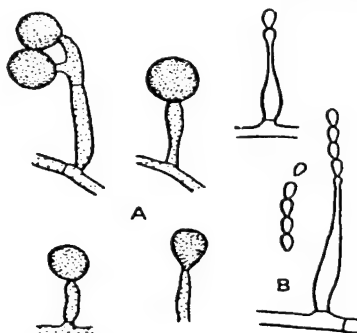
ويتوقف نمو هذه الفطريات على التفاعل بين قدرتها الترممية ونوع المادة النامي عليها الفطر *substratum / saprotroph relationship* ، حيث تعتبر الرطوبة العالية من أهم العوامل اللازمة لنمو مثل هذه الفطريات، خاصة تحت ظروف الجو الدافئ.

وتعتبر الفطريات فعالةً ومسببةً لعفن المواد المصنوعة من السيليلوز؛ مثل القطن؛ حيث زاد الاهتمام بدراسة تحليل المواد القطنية خلال الحرب العالمية الثانية، فعلى سبيل المثال، اهتم العلماء الأمريكيون بدراسة الطرق التي تمنع الفطريات من تحليل الملابس والمنسوجات القطنية التي تستعملها قواتهم المسلحة في المحيط الباسفيكي؛ حيث الحرارة المرتفعة، والرطوبة الجوية التي تؤدي إلى نشاط الفطريات المحللة للسيليلوز.

ومن أهم هذه الفطريات، الفطر *Chaetomium globosum* الذي يظهر نشاطه الفائق في تحليل ألياف القطن؛ حيث تظهر المنسوجات القطنية وقد نما الفطر عليها في صورة بقع سوداءٍ وصبغاتٍ تؤدي إلى فقدان متانة النسيج؛ نتيجة لتحليل الياف السيليلوز؛ مما يعمل على تلفه، وعدم صلاحيته للاستخدام.

ومن الفطريات الأخرى المحللة للمنسوجات والحبال المصنوعة من القطن والكتان

والمانيلا بعض الأنواع التابعة للجنس *Aspergillus* والجنس *Humicola*، بالإضافة إلى الفطر *Cladosporium herbarum*.



شكل (١٢) : الجنس *Humicola*.

A - حوامل كونيدية وكونيديات.

B - قارورات وسلاسل من الكونيديات الصغيرة.

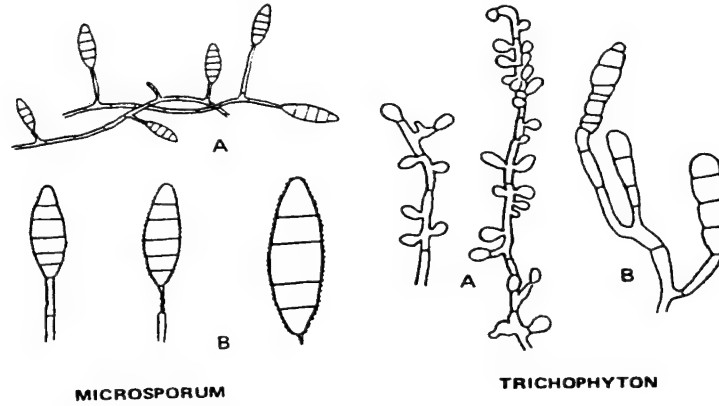
ويعتبر الفطر البحري *Zalerion spp.* التابع لطائفة الفطريات الناقصة، أحد الفطريات التي تهاجم الحبال المجدولة المستعملة في القوارب والسفن البحرية. ويسبب هذا الفطر تحليل ألياف القطن أو الكتان المصنوع منها هذه الحبال، فتتغير لونها، وتتبقع بألوان داكنة، وتنبعث منها رائحة كريهة، كما تفقد هذه الحبال متانتها وتزداد مرونتها.

ولقد أهتمت العديد من الشركات المنتجة للمنسوجات القطنية والكتانية المستخدمة في صناعة خيام المعسكرات والحبال المجدولة وأكياس الرمال وشباك صيد السمك وغيرها، والتي تتعرض لهجوم مثل هذه الفطريات، بمعاملة المنسوجات ببعض المطهرات الفطرية مثل المحلول المائي لمادة نافثينات النحاس *Copper naphthenate*.

وحيث إن الفطريات المحللة للسيليلوز *cellulolytic fungi* تقطن التربة، فإن تحسُّن الظروف البيئية حولها يؤدي إلى زيادة نشاطها ونموها، ومن ثم إلى ارتفاع كفاءتها في تحليل المواد السيليلوزية بسرعة وكفاءة عالية.

وحالياً، تلعب هذه الفطريات دوراً محدوداً في تلف الأنسجة المصنوعة من القطن؛ ويرجع ذلك إلى صناعة الأنسجة من خليط من ألياف السيليلوز والألياف الصناعية، كما تستعمل بعض المطهرات الفطرية في أثناء صناعة مثل هذه الأنسجة؛ حتى تدرأ عنها خطر هذه الفطريات المحللة للسيليلوز.

ومن ناحية أخرى، تتعرض المنسوجات الصوفية أيضاً لمهاجمة الفطريات، ولكن بدرجة أقل بالمقارنة بالأنسجة القطنية والكتانية. ومن الفطريات المحللة للصوف، بعض الأنواع التابعة للجنسين *Microsporum* و *Trichophyton*، وهى أنواع قريبة الصلة من الفطريات الممرضة للجلد والتي تحلل الكرياتين *creatine*.



شكل (١٣): بعض الفطريات المحللة للمنسوجات الصوفية.

أ. الفطر *Microsporum*

A - حوامل كونيدية وكونيديات . B - مراحل تكوين الكونيدة وتكوين الجذر العرضية.

ب. الفطر *Trichophyton*

A - كونيديات صغيرة *microconidia* . B - كونيديات كبيرة *macroconidia* .

ويمكن عزل أنواع أخرى من الفطريات من الصوف، إلا أن هذه الفطريات تكون محللة لمركبات أخرى - مثل زيوت الخضراوات والصابون المستعمل في الغسيل - والتي قد تترك أثارها خلال مراحل تصنيع المنتجات الصوفية.

ويمكن للفطريات أن تحلل الكتب وأحبار الطباعة، وخاصةً عند تخزينها في ظروف رطبة ودافئة. ومن أمثلة ذلك ما نشر عن تلف إحدى المخطوطات الورقية التاريخية في مدينة حلب، وقد سميت هذه المخطوطة بـ«مخطوطة حلب Alippo codex»؛ وهي ذات القيمة التي لا يمكن تقديرها بمالٍ. وتعتبر هذه المخطوطة هي الجزء الأول من العهد القديم Hebrew old Testament؛ والتي كتبت على ورقٍ مقوٍ (parchment) في مدينة طبرية Tiberias بالأرض المحتلة في القرن العاشر قبل ميلاد السيد المسيح.

وفي عام ١٩٤٧، تعرضت هذه الوثيقة التاريخية لحريق؛ حيث اعتقد أن حروفها السفلى قد أفسدتها النيران، إلا أن الأبحاث الحديثة أظهرت أن هذا الفساد الذي طرأ على هذه الوثيقة لا يرجع إلى الحريق، ولكن إلى تلوث الوثيقة بأنواع من الفطر *Aspergillus*.

وهناك عديد من الفطريات الأخرى التي تهاجم الخشب الخام، وميشور الخشب المستعمل في صناعة عجيبة اللباب في مصانع الورق؛ مثال ذلك الفطر *Phanerochaete chrysosporium*. كما يهاجم هذا الفطر الورق الخام، وخاصةً عند ارتفاع نسبة الرطوبة.

وينتج عن نمو هيفات الفطر على الورق إفرازه أحماضاً عضوية. وتؤدي هذه الأحماض إلى فقد الورق لونه الناصع؛ وخاصة إذا احتوى الورق على بعض المكونات الراتنجية خلال تصنيعه. كما أن الأحبار المستعملة في الطباعة تكون ذات تأثير حامضي عادةً؛ وهذا يعجل بفساد الورق وتدهوره.

كما أن تعريض الورق للضوء يفسده ويجعله هشاً سهل التقصف بعد فترة قصيرة؛

فإذا ما تعرض مثل هذا الورق لرطوبة جوية عالية، فإنه يمتصها، ويحتفظ بها؛ ويؤدي ذلك إلى تشجيع نمو الفطريات عليه وتدميرها لمكوناته.

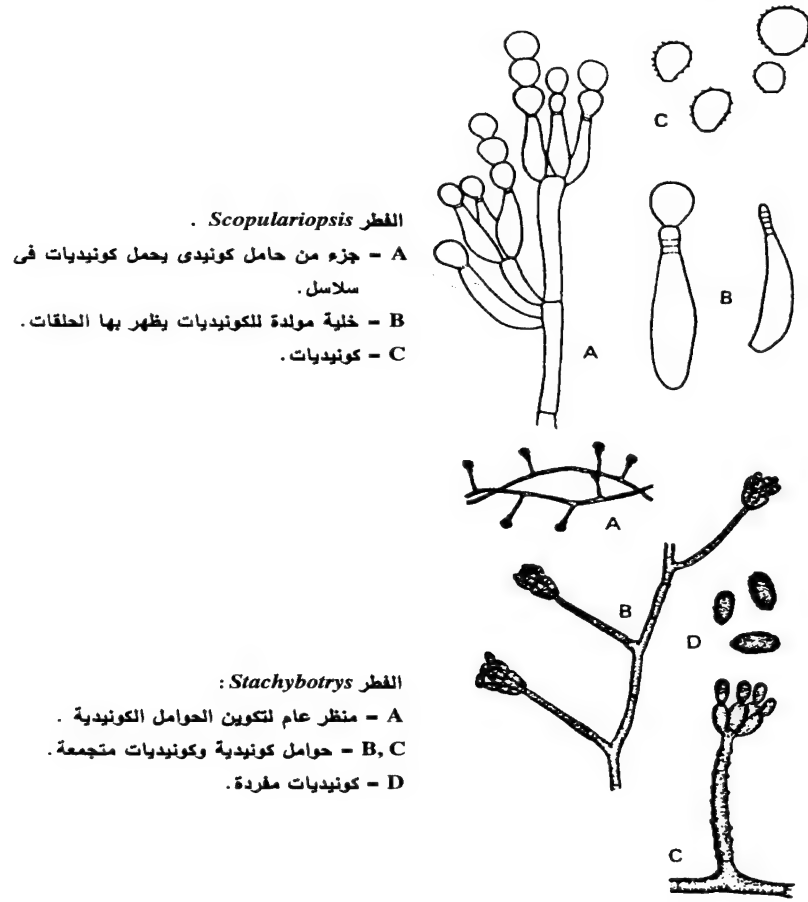
ويتركب الورق أساساً من ألياف السيليلوز، بالإضافة إلى كميات مختلفة من المواد الغروية، كما أن الكتب القديمة تحتوى على كميات من العجائن المستعملة فى التجليد، والتي تتركب -غالباً- من الدقيق والدكسترين. وتعتبر المركبات السابقة مصادر جيدة لتغذية الفطريات وتشجيع نموها؛ ومن ثم تصبح هذه الكتب - بفعل الفطريات - أكثر عرضة للتدهور من غيرها من الكتب الحديثة.

ومعظم الفطريات التي تنمو على الورق والكتب القديمة عبارة عن أنواع مختلفة تتبع الأجناس *Chaetomium* و *Penicillium*، بالإضافة إلى الفطريات *Trichoderma viride*، و *Cladosporium herbarum* و *Stachybotrys alba*.

وفى الأماكن الرطبة -مثل الحمامات والمطابخ- ينمو الفطر *Chaetomium glo-bosum* على ورق الحائط متغذياً على الألياف السيليلوزية، بينما تؤدي زيادة الرطوبة الجوية لأكثر من ٧٠٪ إلى انتشار نمو الفطريات على سطوح الكتب، وقد تتخلل المواد المستعملة فى التجليد.

كما أن بعض الأنواع الفطرية -وخاصة تلك التابعة للجنسين *Penicillium* و *Tri-choderma* - تكون أعداداً هائلة من الجراثيم المسحوقية التي تنتشر بسهولة فى الهواء؛ ومن ثم تعمل كمصدر عدوى جديد للكتب.

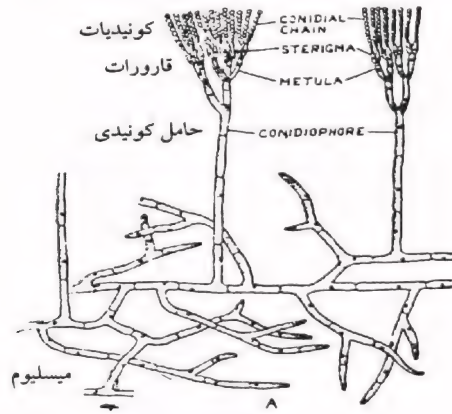
وتتحول أوراق الكتب التي تعرضت للنمو الفطرى إلى لون مصفر. كما أن كثيراً من الفطريات التي تهاجم الورق -مثل الأنواع التابعة للجنس *Aspergillus* - ينتج عن نموها أحماض عضوية، بالإضافة إلى إفرازها للإنزيمات المحللة للسيليلوز، وتؤدي تلك الإفرازات الفطرية إلى فساد الورق وتدهوره.



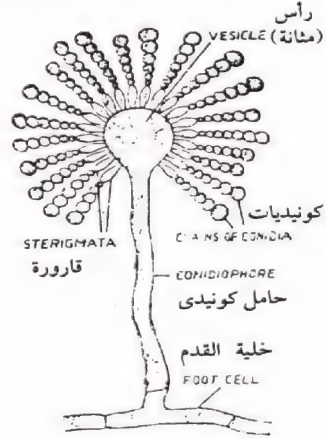
- الفطر *Scopulariopsis* .
- A - جزء من حامل كونيدى يحمل كونيدات فى سلاسل .
- B - خلية مولدة للكونيدات يظهر بها الحلقات .
- C - كونيدات .

- الفطر *Stachybotrys* :
- A - منظر عام لتكوين الحوامل الكونيدية .
- B, C - حوامل كونيدية وكونيدات متجمعة .
- D - كونيدات مفردة .

شكل (١٤) : الحوامل الكونيدية وكونيدات بعض الفطريات المسببة لتلف الكتب .

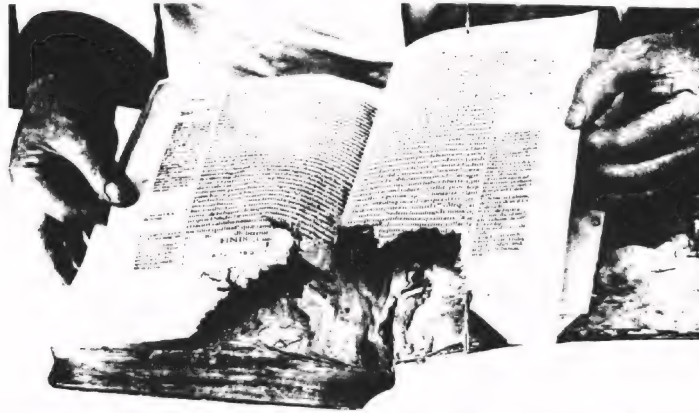


Penicillium



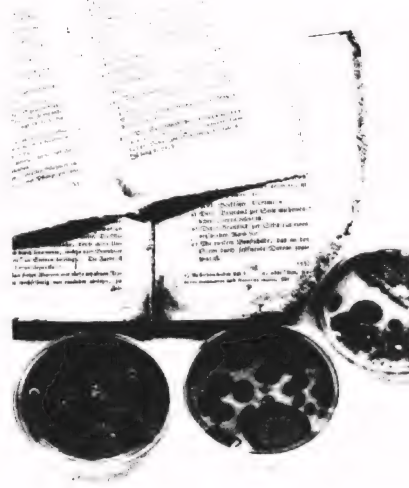
Aspergillus

شكل (١٥): الحوامل الكونيدية وكونيديات القطر *Aspergillus* والفطر *Penicillium*.



شكل (١٦): نموذج لأحد المراجع التاريخية، بعد أن تعرض لغزو الفطريات المحللة للسيليلوز وحبر الطباعة.

شكل (١٧) : عزل بعض الفطريات المسدولة عن
تحلل السيليلوز وحبر الطباعة.



وهناك فطريات أخرى تتميز بإنتاجها مواد ملونة (صبغات) **pigmented products** ناتجة عن التمثيل الغذائي الثانوي لها؛ حيث تعمل على تبقع الورق بألوانٍ صفراء أو بنية، وقد تسبب هذه المواد المقرزة تحليل حبر الطباعة وإزالته.

وقد يتآكل سطح الورق بعد فترة قصيرة من الهجوم الفطري، وتصبح مثل هذه الأوراق هشة سهلة التقصف. كما يتكاثف النمو الفطري تحت ظروف الرطوبة العالية؛ حيث تظهر جراثيم هذه الفطريات بألوانها المختلفة. وقد يعتمد البعض إلى إزالة هذه الجراثيم ذات المظهر الترابي الجاف من على الكتب التي أهملت لفترة، ولكن يجب مراعاة عدم استنشاق هذه الجراثيم لخطورتها على الصحة العامة.

ومن ناحية أخرى وجد أن بعض الفطريات يمكنها النمو على العدسات الزجاجية للنظارات، متغذية على العناصر الغذائية المتخلفة على العدسات نتيجة بصمات الأصابع، أو تلك الموجودة في الجو. وتنتشر هذه المشكلة في المناطق الاستوائية؛ حيث ارتفاع

درجات الحرارة والرطوبة الجوية، بالإضافة إلى توافر المواد العضوية العالقة في الجو التي تنتج عن كثافة الغطاء النباتي في مثل هذه المناطق.

وينتج عن نمو الفطريات على العدسات الزجاجية حدوث نقر على سطح الزجاج؛ مما يقلل من جودة العدسات. ولتجنب مثل هذه المشكلة، فإنه يجب حفظ العدسات الزجاجية في الأجهزة الحساسة للغاية الثمن - كالمجاهر، والأجهزة الضوئية الأخرى - في مكان مغلق جاف بعيداً عن متناول الفطريات، كما يمكن اتباع التنظيف الدوري للعدسات؛ للتخلص من جراثيم هذه الفطريات الضارة.

وتتعرض الأجهزة الكهربائية لأخطار مشابهة ناجمة عن فعل الفطريات، وخاصة في المناطق الاستوائية؛ حيث تجد الفطريات ما تحتاج إليه من رطوبة عالية وحرارة مرتفعة ومواد غذائية تكفي لنشاطها؛ محللة المواد العازلة في تلك الأجهزة الكهربائية؛ مسببة مشاكل لا حصر لها.

ويتعرض الوقود الهيدروكربوني وزيت التشحيم أيضاً لهجوم الفطريات. ومن أكثر الأمثلة المعروفة في هذا المجال تلوث وقود الطائرات بالفطر *Cladosporium resinae*؛ حيث ينمو هذا الفطر على خزانات الوقود؛ مستفيداً بأبخرة الوقود والماء الموجودة عليه؛ مما ينتج عنه زيادة النمو الميسليومي والجراثيم التي قد تعمل على انسداد أنابيب الوقود والمرشحات. كما يسبب نمو هذا الفطر تكوين أحماض عضوية تسبب خسائر إضافية لأجهزة الملاحة الجوية في هذه الطائرات.

ومن الفطريات الأخرى الملوثة لوقود الطائرات فطر الكيروسين - *the kerosene fungus* (*Hormoconis resinae*) الذي يسبب خطورة بالغة للطائرات النفاثة في المناطق الاستوائية؛ نظراً لنموه على وقود هذه الطائرات. ويقطن هذا الفطر التربة - عادة - كأحد الفطريات المتربة، إلا أن جراثيمه تجد طريقها إلى الهواء بفعل حركة الرياح، وبذلك تصل إلى وقود الطائرات.

وهناك نحو ثلاثين فطراً - على الأقل - تم عزلها من وقود الطائرات؛ حيث تنمو

هيفاتها محللة مكونات الوقود، ومكونة جراثيم تسبب -هى وكتل الهيفات- انسداداً لأنابيب ومرشحات الوقود، مما يؤثر على كفاءة طيران هذه الطائرات.

ولم تنج أحبار الطباعة من هجوم الفطريات، سواء عند تخزينها فى عبواتها الأصلية، أم عند استخدامها. ويؤدى نمو الفطريات فى عبوات أحبار الطباعة إلى فقدان لونها، بينما يؤدى نمو هذه الفطريات على ماكينات الطباعة إلى عدم تجانس توزيع الحبر وظهور بقع سوداء. ومن أهم هذه الفطريات *Aureobasidium pullulans*، وبعض الأنواع التابعة للجنس *Cladosporium*.

وتهاجم الفطريات الجلود، والكاوتشوك، والمواد اللاصقة، والعقاقير الطبية ومساحيق التجميل، وأى منتج آخر يتم حفظه تحت ظروف تشجع النمو الفطري، حتى أن البلاستيك فشل فى أن يكون مقاوماً لفعل الفطريات، اللهم فيما عدا مركبات البولى يوريثانات *polyurethanes*، وهى مركبات معقدة مازالت تبدي مقاومةً للتحلل الفطري.

ومن ناحية أخرى، فإن المواد الملدنة *plasticisers* -التي تضاف بغرض زيادة لدانة المركبات- قابلة لهجوم الفطريات لدرجة ما. ومعظم هذه المواد عبارة عن أستراتٍ لأحماضٍ دهنية *fatty acid esters* ذات سلاسل مختلفة الطول، ويتم تحليلها عن طريق إفراز الفطر لأنزيمات تحليل رابطة الأستر *esterases* وتحليل الدهون *lipases*.

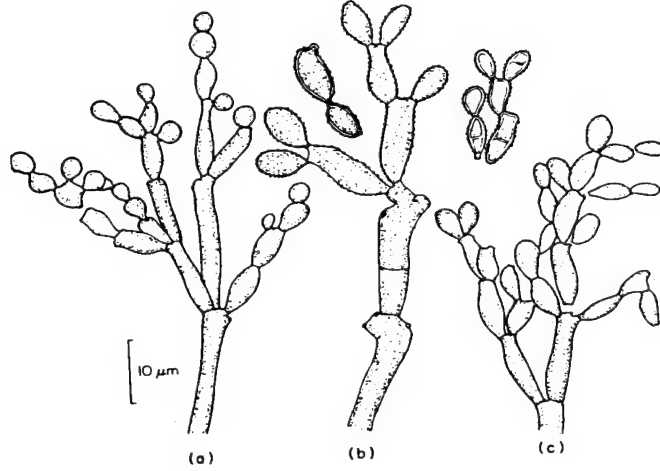
فعلى سبيل المثال، يمكن للأنواع التابعة للجنس *Fusarium* تحريم مادة *butan-1-ol* من مادة *dibutyl phthalate*، ثم تنمو هيفات الفطر على أسترات البيوتيل *butyl esters* للأحماض الدهنية سيكاسيك *sebacic acid* وأوليك *oleic acid*.

وتتحدد سهولة تحليل هذه المواد بفعل الفطر على طول السلسلة؛ حيث يتحدد أى من الكحولات سوف يتحلل. وبصفة عامة، فإن هذا التحليل يقل بزيادة طول السلسلة.

وتهاجم الأنواع المختلفة للجنس *Penicillium* الأسترات المعقدة *polyesters*، كما أن هناك فطريات أخرى تسبب انخفاضاً فى الوزن، وتقلل من قوة تحمل مركب البولى يوريثان *polyurethane*.

ولقد سبب التلوث الفطري مشاكل لاحتصر لها للأجهزة الكهربائية خلال السنوات الماضية؛ نظراً لأن بعض المواد البلاستيكية - مثل مادة الإيبوكسي epoxy والبولى إيثيلين polyethylene والبولى بروبيلين polypropylene - تمثل مكونات لأجزاء حساسة داخل مثل هذه الأجهزة الكهربائية، وهى تتعرض للتحلل بفعل الفطريات.

ويمكن عزل أنواع مختلفة من الفطريات من على سطح الدوائر الكهربائية المطبوعة **printed circuits** ؛ ومثال ذلك: *Fusarium* و *Cladosporium cladosporioides* و *Chaetomium globosum* و *solani* . بالإضافة إلى أنواع من الجنس *Penicillium* .



شكل (١٨) : الحوامل الكونيدية لبعض الأنواع التابعة للجنس *Cladosporium* .
 (a): *C. sphaerospermum*.
 (b): *C. herbarum*.
 (c): *C. cladosporioides*.

كما تُهَاجَم الأسلاك الكهربائية بواسطة الفطريات، وخاصة تلك الأسلاك المدفونة تحت سطح الأرض.. وكذلك رقائق السيليكون العالية الصقل -highly polished sili- con wafers يمكن أن تنمو عليها أنواع مختلفة من الفطريات.

وهناك مثال آخر -ربما يكون تاريخياً- للدور المهم الذى تلعبه الفطريات فى التحليل الحيوى للمواد العضوية، والذى أشارت إليه الأبحاث فى ذلك الوقت (Heron et al., 1932) تحت اسم فطر الزرنيخ فى مدينة Go- (arsenic fungus of Gosio) sio ؛ فمن المعروف أن بعض الفطريات -وخاصة الفطر *Scopulariopsis brevicoules* - يمكنها إنتاج مواد متطايرة من مركبات الزرنيخ، ومنها مشتقات الميثيل -مثل غاز ثنائى ميثيل الزرنيخ dimethyl arsine - الذى يتميز برائحته التى تشبه رائحة الثوم.

وتسبب قدرة بعض الفطريات على تكوين مواد ميثيلية من الزرنيخ إلى موت الكثير من الضحايا خلال القرن الماضى؛ حيث استعملت مركبات الزرنيخ -عادة- فى تلوين ورق الحائط. وفى الظروف الرطبة ينمو الفطر على هذا الورق؛ محلاً للصبغات التى يدخل الزرنيخ فى تركيبها؛ فتتحرر أبخرة الزرنيخ السامة، وتسبب الوفاة.

الباب الخامس

التسمية الشائعة وأساسيات التصنيف

التسمية الثنائية وأساسيات التصنيف

١ - التسمية الثنائية للفطريات Nomenclature :

لم تتبع طريقة محددة لتسمية الفطريات مع بداية عهد دراسة هذه الأحياء الدقيقة؛ لذا كان المتبع أن يوصف الفطر المراد تحديده تبعاً لشكله وطبيعته نموه في البيئة التي ينتشر فيها.

فعلى سبيل المثال، كان يوصف فطر عيش الغراب العادي *common mushroom* بأنه: «الفطر النامي في الحقول، ذو القبعة البيضاء اللون، وسطحها السفلى المائل للحمرة!» وهكذا كانت الطريقة المتبعة لتسمية الكائنات الحية الأخرى؛ بما تحمله من صفات ظاهرة قد تكون متشابهة بدرجات متفاوتة مع أحياء أخرى عديدة.

ثم تطور الأمر -بعد ذلك- بدرجة كبيرة، ليس في علم الفطريات فقط *Mycolo-gy*، ولكن في جميع علوم الأحياء *Biology*؛ وذلك نتيجة لما قام به عالم النبات السويدي العظيم *Carlus Linnaeus* في كتابه «أصل الأنواع *Species Plantarum*»؛ الذي نشره عام ١٧٥٣ باتباعه طريقة التسمية الثنائية اللاتينية *Latin Binomial system of nomenclature*.

وفي هذا النظام -الذي سرعان ما أصبح عالمي الانتشار- أعطى «لينيس» كل كائن حي اسماً ثنائياً يتكون من مقطعين؛ الأول يدل على اسم الجنس *genus*، ويبدأ بحرف أبجدي كبير، والثاني اسم صفة متخصصة *specific epithet* تدل على النوع *species*، ويبدأ بحرف أبجدي صغير.

وتتضمن القواعد المعمول بها حالياً ستة أساسيات وخمسة وسبعين قاعدة، تُقسّم كل منها إلى ستة أجزاء، تضم التوصيات الخاصة بها، بالإضافة إلى ثلاثة ملاحق ودليل لتحديد الأنماط الفطرية **fungal types**.

وهذه التوصيات - التي سبقت الإشارة إليها، والتي تشمل قواعد تسمية الفطريات - هي خلاصة مجهود كثير من علماء الفطريات لسنوات طويلة، ومازالت هناك بنود عرضة للتعديل والتنقيح.

وبالإضافة إلى هذه التوصيات، هناك كثير من البحوث الجيدة والمراجع القيمة؛ التي أنارت الطريق للوصول إلى مانعرفه الآن من تسمية الأحياء وتصنيفها؛ مثال ذلك ماقدمه العالم **Bisby (1953)** الذي ألف كتاباً بعنوان: **An Introduction to the Taxonomy and Nomenclature of fungi**، والعالم **Ainsworth (1973)** الذي نشر بحثاً جيداً بعنوان **(Fungal Nomenclature)**، والعالم **Hawksworth (1974)** الذي ألف كتاباً بعنوان **(Mycologist Handbook)**، ثم ماقدمه العالم **Jeffrey (1977)** بعنوان **(Biological Nomenclature)**.

وفى النهاية، يجب أن يؤخذ فى الحسبان أن ماقدمه علماء الفطريات والباحثون العاملون فى هذا المجال لوضع الفطريات فى نسقٍ تصنيفيٍ يجابهه الكثير من الصعوبات، فهذه المحاولات -على أية حال- من ابتكار الإنسان؛ ومن ثم فهي ليست واقعية، وسوف تظهر طرزاً وسطيةً للفطريات؛ نتيجة الطفرات والتهجين الطبيعي الذي يتم بين السلالات.

ولعل ذلك ماغير عنه عالم الفطريات الفرنسي **Hochreutiner** عام ١٩٢٩؛ حيث ذكر أنه ليست هناك فى الطبيعة عائلات **Families** ولا أجناس **Genera** ولا أنواع **Species**، ولكن هناك فقط أفراد **individuals** يشبه بعضها بعضاً إلى حد ما.

٣. تصنيف الفطريات:

عند دراسة أي من الأحياء الدقيقة، من الأهمية بمكان تعريف الكائن الحي، وتحديد اسم خاص به، ثم تصنيف هذا الكائن الحي مع من يشابهه في الشكل والمضمون. ولقد استطاع الإنسان - بدرجات متفاوتة من النجاح - أن يتعرف على ماحوله من أحياء، منذ ذلك الوقت الذي تعلم فيه أي من النباتات سام؟ وأي من الحيوانات أطيب مذاقاً؟.

وهكذا الحال في الفطريات الصناعية، فإنه من الأهمية بمكان التعرف على نوع الفطر المتداخل في عملية حيوية معينة، فإذا ماتلوث التحضير بفطر آخر غير مرغوب خلال مراحل التصنيع فسد المنتج النهائي.

وعادة ما يكون من الضروري تعريف الكائن الحي المستعمل في إعداد وتجهيز مادة ما؛ للحصول على منتج نهائي مرغوب فيه؛ بحيث يمكن تكرار الحصول على نفس المنتج عدة مرات؛ وذلك باستعمال نفس الكائن، ونفس التقنية والمواد الخام.

ويطلق على فرع علم الأحياء الذي يهتم بدراسة ترتيب الكائنات الحية المتناظرة في مجموعات «علم التقسيم Taxonomy». ويهتم هذا العلم بدراسة الأحياء وصفاتها، وتسميتها تسمية ثنائية، ثم تصنيفها في المجاميع الخاصة بها؛ والتي تضم أفراداً متشابهة.

ونظراً للصعوبات الجمة التي قابلت العلماء والباحثين - مع بداية هذا العلم - سواء في الفحص المجهرى، أم التسجيل الدقيق للصفات، أم في الاتصال بين هؤلاء العلماء والباحثين بعضهم وبعض، فإن ذلك أدى إلى اقتراح عديد من التصورات للوضع التقسيمي للأحياء، وإلى إطلاق أسماء للأحياء كانت متداخلة بطريقة يصعب تصنيفها في مجاميع.

zygospores؛ وبذلك شملت هذه الطائفة (Phycomycetes) مجموعات متباينة من الفطريات.

وتبعاً للتصنيف الذى وضعه (Ainsworth 1966)، وضعت الفطريات ذات الميسليوم المقسم فى تحت أقسام Subdivisions الفطريات الأسكية Ascomycotina والبازيدية Basidiomycotina، بالإضافة إلى الفطريات الناقصة Deuteromycotina.

وواضح أن التصنيف السابق كان معتمداً على طريقة إنتاج الفطر لجراثيمه الجنسية فى الأطوار الكاملة (perfect states (telemorph)، بينما وضعت الفطريات التى لم يشاهد لها حتى الآن أطوار كاملة تكوّن جراثيم جنسية فى تحت قسم الفطريات الناقصة.

وتعتبر الفطريات السوطية Mastigomycotina أكثر الفطريات الحقيقية بساطة فى تركيبها، بينما تبلغ الفطريات ذروة رقيها فى طائفة الفطريات البازيدية، وعلى رأسها فطريات عيش الغراب؛ بما تكونه من أجسام ثمرية لحمية كبيرة الحجم.

وتتميز الفطريات السوطية بتكوين هيفات غير مقسمة aseptate hyphae تسبح فيها الأنوية فى السيتوبلازم فيما يسمى «الدمج الخلوى coenocytic mycelium»؛ وهذا يجعل من السهولة بمكان التعرف على مثل هذه الفطريات وتمييزها عن غيرها من هيفات الفطريات الأخرى المقسمة يحدراً عرضية.

ومعظم فطريات العفن المائية متجانسة الثالوس الفطرى homothallic thallus؛ حيث تحمل جاميطاتها المذكرة والمؤنثة على نفس الميسليوم الواحد الناتج من إنبات جرثومية متحركة واحدة.

وحيث إن هذه الجاميطات يمكنها إتمام الإخصاب وتكوين الطور الجنسي؛ لذا يطلق على مثل هذا الثالوس الفطرى المتجانس اسم «وحيد المسكن monoecious».

ويحتوى الطور الجنسي المؤنث - الذى يطلق عليه اسم أووجونة oogonium - على عديد من الأنوية الأحادية المجموعة الصبغية، والتى تكوّن بعد ذلك ٥-١٠ بويضات وحيدة النواة يطلق عليها اسم «oospheres».

ويتم إخصاب هذه البويضات عن طريق الأنوية الذكورية، التي تدخل البويضة من خلال أنبوب إخصاب *fertilisation tube* يتكون عن طريق عضو التذكير الذى يطلق عليه اسم «أنثريدة *antheridium*».

وتحاط كل بويضة مخصبة بجدار سميك؛ مكونة جرثومة بيضية *oospore*؛ حيث تبقى مثل هذه الجراثيم ساكنة حتى تتحسن الظروف المحيطة بها. وعند إنبات الجرثومة البيضية، فإنها تكون ميسليوماً أولياً *promycelium* يحمل كيساً أسبورانجياً.

وعلى العكس مما سبق، فإننا نجد أن معظم أنواع الفطريات الزيجية التابعة للجنس *Mucor* ذات ثالوس متباين *heterothallic thallus*؛ حيث تحمل جاميطاتها على نوعين من الميسليوم، تنشأ كل منهما من إنبات جرثومة أسبورانجية وحيدة؛ لذا توصف مثل هذه الفطريات بأنها «ثنائية المسكن *dioecious*».

وحيث إنه لا يمكن التمييز بين نوعى الميسليوم الفطرى اللذين سبقت الإشارة إليهما؛ إذ يتشابهان فى تركيبهما الخارجى؛ لذا فإننا نشير إليهما برمزى (+)، (-)؛ للدلالة على اختلافهما من الناحية الجنسية. وفى أعقاب عملية الإخصاب، تتجاور الأنوية الأحادية ذات المصادر المختلفة (+ ، -)، ثم تتحد كل نواتين معاً؛ لتتكون أنوية ثنائية المجموعة الصبغية داخل الجرثومة الزيجية.

وتنبت الجرثومة الزيجية *zygospore* مكونة ميسليوماً أولياً؛ يحمل كيساً أسبورانجياً؛ يحتوى على نوع واحد من الجراثيم الأسبورانجية، إما (+) أم (-)، ولكنه لا يحمل النوعين معاً.

وتمثل الفطريات الأسكية *Ascomycotina* أكبر طائفة من الفطريات التى تضم الخمائر، بالإضافة إلى عديد من الفطريات الهيفية المختلفة؛ مثال ذلك: الفطر *Clavi- ceps purpurea* الذى يصيب بعض المحاصيل النجيلية مسبباً لها مرض الأرجوت *er-got*، بالإضافة إلى فطريات المورشيلا *morels* ذات القيمة الغذائية العالية.

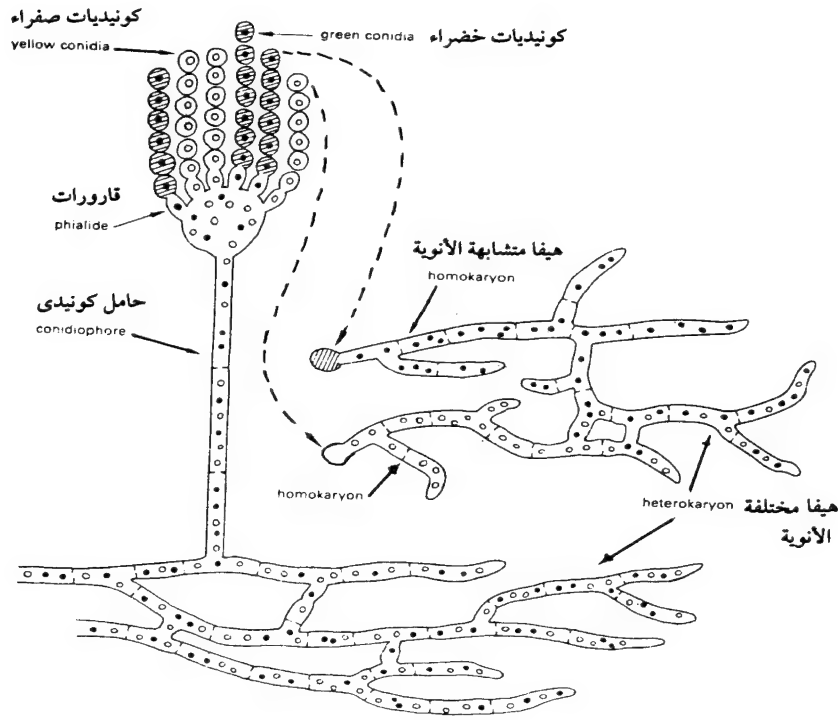
هذه الأمراض، بينما تشاركه أنواع أخرى؛ مثل *A.terreus*، و *A.flavus*، و *A.niger* بدرجات متفاوتة.

فعلى سبيل المثال، يصيب الفطر *A.flavus* الرئة، فتظهر أعراض مرضية لا تتشابه مع أعراض مرض السل، وعلى الرغم من ذلك، فلقد شخصت مثل هذه الأعراض فيما مضى - بطريق الخطأ - على أنها لمرض السل، ووصف لعلاجها مضادات حيوية مضادة للبكتيريا؛ مما أدى إلى سوء الحالة الصحية للمرضى.

وتنتج الأنواع التابعة للجنس *Aspergillus* عديداً من الإنزيمات الخارجية، بعضها يتم استغلاله جيداً في التقنية الحيوية الصناعية؛ فمثلاً يعتبر الفطر *A.niger* مهماً في إنتاج حمض الستريك *citric acid* وحمض الجلوكونيك *gluconic acid* اللذين يستخدمان في الصناعات الغذائية، بينما يستخدم الفطر *A.wentii* في اليابان في إنتاج بعض الأغذية المخمرة.

وكثيراً ما تصادف الأطوار اللاجنسية للفطر *Aspergillus* في معظم الصناعات المعتمدة على التقنية الحيوية للفطريات؛ حيث يتميز هذا الجنس بإنتاجه الوفير من الكونيديات المتكونة في سلاسل على انتفاخ يعلو قمة الحامل الكونيدى؛ يطلق عليه اسم «الفقاعة *vesicle*»؛ حيث تتكون هذه الكونيديات من خلية مولدة للكونيديات *conidiogenous cell* ذات شكل قارورى يطلق عليه اسم «قارورة *phialide*» (شكل ٢٠).

ويتم التكاثر الجنسي في الفطر *Aspergillus* عن طريق تكوين جراثيم أسكية داخل أكياس أسكية توجد داخل جسم ثمرى أسكى مغلق *cleistothecium*، إلا أن قليلاً من الأنواع التابعة لهذا الجنس هي التي شوهدها لها مثل هذا التكاثر الجنسي، بينما فقد معظمها قدرته على التكاثر الجنسي. ويطلق على الأنواع المكونة للطور الأسكى (الجنسى) اسم «الجنس *Eurotium*».



شكل (٢٠): الفطر *Aspergillus*. رسم يوضح الميسليوم المتباين الأنوية - heterokaryotic mycelium الذي تحتوي كل خلية فيه على أنوية مختلفة. وتظهر الكونيديات الوحيدة الخلية ذات نواة واحدة، والتي تنتج عند إنباتها ميسليوماً أولياً، يتحد جسدياً مع نظير له يختلف عنه في نوع النواة ليكون ميسليوماً ثانوياً عديد الأنوية المختلفة.

وتحمل الحوامل الكونيدية ذات التفرعات الغزيرة لهذا الجنس قارورات *phthalides*؛ سواء فردية، أم في مجموعات.. ومن هذه القارورات تتكون كونيديات رطبة لزجة. وتعتبر الأنواع التابعة لجنس *Trichoderma* بصفة عامة ذات قدرة تضادية لنمو غيرها من الفطريات الأخرى؛ ومنها بعض الفطريات الممرضة للنبات؛ لذا يعتبر هذا الجنس هاماً في مكافحة الحيوية لهذه الأمراض.

وبالإضافة إلى ماسبق، تتميز الأنواع التابعة لهذا الجنس بقدرتها العالية في إنتاج الانزيمات المحللة للسيليلوز، لذلك تستخدم في إنتاج هذه الانزيمات تجارياً، في تحويل المخلفات السيليلوزية إلى سكر الجلوكوز.

ب - فطر العفن الأبيض (*Phanerochaete chrysosporium*):

هو أحد الفطريات البازيدية المستخدمة في بعض التطبيقات الحيوية الهامة؛ حيث يعتبر أحد فطريات العفن الأبيض *white rot fungi* المحللة للخشب. ويفرز هذا الفطر إنزيمات محللة للجنين غير متخصصة *non-specific ligninases*؛ يمكن استخدامها في تحليل المواد العضوية الملوثة للبيئة؛ سواء في السوائل، أم في التربة.

ج - فطريات الخمائر *Yeasts*:

تلعب الخمائر دوراً أساسياً في التقنية الحيوية (جدول ٤). وعلى الرغم من أن بعض العاملين في مجال الأحياء الدقيقة يضعون الخمائر في مجموعة مستقلة عن الفطريات، إلا أن الخمائر - في الحقيقة - تعتبر فطريات أسكية في مجملها، وإن كان بعضها بازيدياً. ولبعض أنواع الخمائر مرحلة تكون خلالها هيفات، أو تظهر مايمكن أن نطلق عليه «التشكل الثنائي خميرة/فطر *yeast-mould dimorphism*»؛ وهذا يوضح قدرتها على تغيير شكل نمواتها، وخاصة تحت ظروف اختلاف التغذية.

والشكل التقليدي للخميرة أنها وحيدة الخلية، ذات نمو لزج عند نموها على بيئة غذائية في المعمل، مشابهة في ذلك شكل نموات العنائير البكتيرية. إلا أن خلية

الخميرة أكبر في حجمها من خلية البكتيريا، كما أن الخميرة تتميز بتكاثرها لا جنسياً بالتبرعم، بينما تتكاثر الخميرة جنسياً - عادة - بتكوين أكياس أسكية بسيطة عارية يحتوى كل كيس منها على أربع جراثيم أسكية، وأحياناً أكثر من ذلك.

وتستعمل الأنواع التابعة للجنس *Saccharomyces* فى صناعة الأغذية على نطاق واسع؛ وذلك فى صناعة الخبز، وأيضاً فى إنتاج المشروبات الكحولية.. كما تستعمل الخمائر كمصدر للبروتين الميكروبي *single-cell protein*، وكذلك لإنتاج الكحول للأغراض الصناعية. ولقد أدى التطور الحديث فى التقنية الجزيئية الحيوية للخمائر إلى زيادة استخدام هذه الخمائر فى عديد من الصناعات الحيوية الهامة للإنسان.

د - فطريات عيش الغراب :

تستخدم عديد من الأنواع التابعة للجنس *Agaricus* فى إنتاج ثمار فطر عيش الغراب المأكولة ذات المحتوى العالى من البروتين. ويعتبر هذا الفطر من الفطريات البازيدية المحللة للسيليلوز؛ حيث ينتشر فى الطبيعة على المواد العضوية المتحللة فى أرضية الغابات والمناطق العشبية.

وتنمو هيفات هذا الفطر محللة المواد السيليلوزية؛ مثل أوراق الأشجار المتساقطة، والأفرع والأغصان الميتة؛ وذلك على هيئة شبكة هيفية تنمو على سطح التربة تحت هذه المواد العضوية؛ محللة إياها إلى مادة دبالية إسفنجية القوام.

وتعتبر الأنواع التجارية من فطر عيش الغراب العادى التابعة للجنس *Agaricus* من مصادر الغذاء البروتينى المألوفة لكثير من شعوب دول أوروبا، وخاصة النوع *A. bisporus*.

وتحمل ثمرة عيش الغراب الجراثيم الجنسية (البازيدية *basidiospores*) على تراكيب خاصة توجد أسفل القبعة، يطلق عليها اسم «الخياشيم *gills*». وتتراص على هذه الخياشيم حوامل بازيدية *basidia* تحمل هذه الجراثيم الجنسية، التى تتحرر مندفعاً مع تيارات الهواء من حولها؛ مما يساعد على انتشارها إلى أماكن أخرى بعيدة.

جدول (٤) : الاستخدامات الصناعية للخمائر .

استخدامها الصناعي	نوع الخميرة
صناعة الخبز - البيرة - الرقود - الكحول - المشروبات الكحولية	١ - <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
البيرة - إنتاج إنزيم <i>melibiase</i>	٢ - <i>Saccharomyces uvarum</i>
إنتاج الريبوفلافين <i>Riboflavin</i>	٣ - <i>Ashbya gossypii</i>
إنتاج الكاروتين <i>Carotene</i>	<i>Eremothecium ashbyii</i>
إنتاج البروتين الميكروبي من الميثانول	٤ - <i>Rhodotorula</i>
إنتاج البروتين الميكروبي	٥ - <i>Hansenula , Pichia</i>
إنتاج إنزيم <i>Lipase</i>	٦ - <i>Candida , Cryptococcus</i>
إنتاج حمض الستريك	<i>Hansenula , Lipomyces</i>
إنتاج المواد المكونة للستيرويدات	<i>Rhodotorula</i>
إنتاج حمض الجلوكونيك	٧ - <i>Yarrowia lipolytica</i>
(D - gluconic acid)	٨ - <i>Hansenula , Kloeckera</i>
إنتاج إنزيم <i>invertase</i> وإنزيم <i>lactase</i>	<i>Pichia , Rhodotorula</i>
إنتاج البيرة وإنتاج إنزيم <i>glucoamylase</i>	٩ - <i>Saccharomycopsis</i>
إنتاج الجليكوليبيدات <i>glycolipids</i> وإنتاج مادة	<i>Aureobasidium</i>
<i>Biosurfactant (Liposan)</i> المحفزة للتوتر	١٠ - <i>Kluyveromyces fragilis</i>
السطحي .	١١ - <i>Saccharomyces diastaticus</i>
	١٢ - <i>Yarrowia lipolytica</i>
	<i>Torulopsis bombicola</i>

هـ- فطر الأرجوت *Claviceps purpurea*:

يتبع هذا الفطر طائفة الفطريات الأسكية *Ascomycotina*؛ حيث يتميز بتكوينه أجساماً حجرية *sclerotia* يطلق عليها اسم إرجوتات «ergot»، والتي يستخلص منها مواد قلوية *alkaloids* عظيمة الفائدة العلاجية.

ففى خلال فصل الربيع، تنبت هذه الأجسام الحجرية -التي قضت فترة الشتاء فى التربة؛ حيث عملت البرودة على تنشيطها - مكونة حشياتٍ ثمريةٍ معنقةٍ تنغمد فيها أجسام ثمرية أسكية دورقية الشكل *perithecia*. ويحتوى كل جسم ثمرى أسكى منها على حوالى ١٠٠ كيسٍ أسكى، يقذف كل منها ثمانى جراثيم أسكية؛ تندفع فى الهواء لتصطدم بأوراق الحشائش والنباتات النجيلية من حولها؛ فى الوقت الذى تكون فيه أزهارها قد بدأت لتوها فى التفتح.

وتحدث العدوى عند إنبات هذه الجراثيم الأسكية على النباتات النجيلية؛ حيث تنمو هيفات الفطر بسرعة مكونة غلالة سميكة من الميسليوم؛ الذى يكون بدوره كتلاً من حوامل كونيديية *conidiophores* تنغمد فى محلولٍ رقيقٍ لزجٍ حلو المذاق.

ويجذب هذا المحلول السكرى الحشرات إليه؛ حيث تجذ فيه غذاءً شهياً ميسوراً دون أن تدرك أنها تُقدّم -فى المقابل- خدمةً عظيمةً للفطر الممرض؛ وذلك بنقل كونيدياته إلى الأزهار المتفتحة. وعندما تصل هذه الكونيديات إلى أزهار النباتات، فإنها تنبت وتصيب مبايضها؛ حيث يتحول مبيض الأزهار المصابة إلى جسمٍ حجرىٍ أسود اللون، يطلق عليه اسم «الأرجوت *Ergot*».

وتتكون المواد القلوية *alkaloids* فى هذا الجسم الحجرى، وعندما يتغذى عليه إنسان أو حيوان، فإنه يسبب له تسمماً يعرف باسم «التسمم الإرجوتى *ergotism*». ولقد انتشر هذا التسمم فى العصور الوسطى، وعرف باسم «حمى القديس أنطونيو *St.*

Anthony's Fire؛ حيث أدى إلى وفاة من يتناول دقيقاً أو حبوباً ملوثة بهذه الأجسام الحجرية السامة.

ولقد أبرز البحث العلمي الحديث الأهمية الطبية لهذه الأجسام الحجرية ودورها في تخفيف آلام البشرية، وسوف نشير إلى ذلك بالتفصيل في الباب الخاص بدور الفطريات في التقنية الحيوية الطبية.

الباب السادس

المعالجة الوراثية للفطريات الصناعية

المعالجة الوراثية للفطريات الصناعية

مقدمة :

حتى وقت قريب كانت هناك هوة واسعة بين الدراسات العلمية الخاصة بالأبحاث الوراثية في الفطريات وبين النواحي التطبيقية في الصناعات التي تستخدم مثل هذه الفطريات؛ فلقد اختير الفطر *Neurospora crassa* والفطر *Aspergillus nidulans* كنموذجين ملائمين للدراسات الجينية *genetic studies*، في الوقت الذي يبدو فيه أن هذين الفطرين ليست لهما أهمية صناعية تذكر.

وفي نهاية عام ١٩٧٤، اعتمد لأول مرة على إنتاج الطفرات كوسيلة فعالة لتحسين السلالات الفطرية؛ حيث تبع ذلك فحص هذه السلالات الناتجة عن الطفرات واختيار أفضلها. وعلى الرغم من أن مثل هذا الأسلوب كان بطيئاً ومكلفاً ويتم في معامل متخصصة، إلا أنه حقق نجاحاً في تحسين إنتاج المضاد الحيوي «بنسيلين» لتلبية الطلبات المتزايدة عليه.

فعلى سبيل المثال، فإن السلالة الأصلية للفطر *Penicillium notatum* التي عزلها عالم الأحياء الدقيقة الشهير ألكسندر فلمنج *Fleming*، كانت تنتج وحدتين من المضاد الحيوي «بنسيلين» في كل مليلتر من البيئة الغذائية التي ينمو فيها الفطر؛ وهذا يعادل حوالي ٠,٦ ميكروجرام بنسلين. وعلى العكس من ذلك، فإن العزلات الفطرية الأصلية التي نشأ منها جميع السلالات الفطرية المستخدمة حالياً في الصناعة، والتي تم عزلها من ثمار كنتالوب مصابة بالعفن في معامل هيئة الزراعة الأمريكية *USDA*؛ وهي للفطر *Penicillium chrysogenum* NRRL 1951، كانت قادرة على إنتاج ١٠٠ وحدة من المضاد الحيوي «بنسيلين» في كل مليلتر من البيئة الغذائية؛

وهذا يفوق عزلة فلمنج السابقة خمسين مرة في قدرتها على إنتاج هذا المضاد الحيوى.

ولقد أمكن - حديثاً - الحصول على سلالاتٍ من هذا الفطر يمكنها إنتاج ٥٠ ألف وحدةٍ من البنسيلين من كل مليلترٍ من البيئة الغذائية؛ حيث تم تحقيق هذا التقدم العظيم عن طريق اختيار سلالات الفطر ذات القدرة الفائقة على إنتاج المضاد الحيوى، وكذلك عن طريق تعديل الدورة فوق الجنسية *parasexual cycle* لمثل هذه الفطريات.

وفى الحقيقة فإن هذا النجاح الباهر فى ذلك المجال - وغيره من المجالات الأخرى التى تستخدم فيها الفطريات - قد يكون راجعاً إلى المحاولات المستمرة التى أدت إلى تطوير الهندسة الوراثية للفطريات (هندسة الجينات *genetic manipulation*). ولعل الإستثناء الوحيد من القاعدة السابقة هو فطر الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*، والذى يمكن مقارنته بالفطريات الهيفية ذات النظام الجينى الأكثر استجابةً للتغير.

ولقد تطورت - فى الآونة الأخيرة - دراسة الجينات الفطرية وتوريث الصفات المرغوبة واستبعاد غير المرغوبة فيما يسمى بـ «الهندسة الوراثية»؛ والذى أدى إلى تطوير هائلٍ فى التقنية الحيوية للفطريات واستعمالها فى الصناعات المختلفة.

١- الطفرات والمواد المطفرة:

تعتبر الطفرات تغيراتٍ فى صفات الفطر يورثها لأجياله التالية؛ حيث تحدث هذه التغيرات فى الجينات *genoms* نتيجة عوامل مختلفة مؤثرة على جزيء الحمض النووى *DNA* وعلى تتابع القواعد النووية، وقد تصل هذه التغيرات إلى مناطق كبيرة من كروموسوم الفطر.

وتحدث الطفرات الطبيعية فى الجينات المتخصصة بدرجةٍ قليلةٍ للغاية، ولا يمكن الاعتماد عليها فى تطوير السلالات الفطرية التى يعتمد عليها فى الصناعة؛ لذلك يجب دفع سلالات هذه الفطريات للتطفر باستخدام عوامل مطفرة

mutagenic agents. وبعض هذه العوامل طبيعي؛ مثل: أشعة X، والأشعة فوق البنفسجية، وبعضها كيميائي؛ مثل: حمض النيتروز، ومادة دى ميثيل سلفونات **de-methylsulphonate**، ومادة إيثيل ميثان سلفونات **ethylmethanesulphonate** (EMS)، ومادة **acridine mustards**.

ويعتبر التأثير الرئيسي لمثل هذه المواد المطفرة هو إحداث ضررٍ ما، أو إحداث تعديل في تتابع القواعد النتروجينية في جزيء الحمض النووي DNA؛ حيث تظهر مثل هذه الطفرات إذا استمر هذا الضرر دون إصلاح. وعادةً ما تحدث مثل هذه الطفرات عرضاً وبصورة عشوائية، ومع ذلك، فإن الاحتياج إلى حدوث الطفرات (التطفر) يزداد للحصول على طفرات ذات قدرة عالية على إنتاج كميات كبيرة من المضادات الحيوية؛ وخاصةً من الفطريات *Penicillium chrysogenum*، و *Cephalosporium acremonium*.

و تشمل الأبحاث -التي تُجرى للبحث عن طفرات جديدة من هذه الفطريات- عزل سلالات جديدة من البيئة من حولنا ذات قدرة عالية على إنتاج المضاد الحيوي، وكذلك إنماء جراثيم هذه الفطريات بعد تعريضها لعوامل مطفرة على بيئة صناعية في المعمل، وأيضاً إنماء جراثيم مثل هذه الفطريات على بيئات تحتوي على أحماض أمينية أو مركبات كبريتية تعادل في تأثيرها حمض α amino adipic acid، والحمضين الأمينيين *cystein* و *valine*؛ حيث تعتبر هذه الأحماض مواد أولية لتكوين المضاد الحيوي بنسيلين وسيفالوسبورين (سى).

٢- الأنظمة فوق الجنسية Parasexual systems :

بعض الفطريات ذات الأهمية الصناعية (مثل تلك الأنواع التابعة للجنسين *Aspergillus* و *Penicillium*) ينقصها التكاثر الجنسي؛ وعلى ذلك فإنه في مثل هذه الأنواع توفر الدورة فوق الجنسية الفرصة للدراسة الجينية *genetic study* ولعمل أنظمة للتربية.

ولقد اكتُشفت الدورة فوق الجنسية عن طريق الباحثين Pontecorvo & Roper خلال دراستهما للاختلاف النووي في الفطر *Aspergillus nidulans*. والدورة فوق الجنسية عبارة عن مجموعة من الأحداث المتعاقبة التي يمكن حثها عند إنماء مجموعة مختلفة من السلالات المتباينة وراثياً بعضها مع بعض في المعمل؛ وهذا يحدث أيضاً في الطبيعة.

إن الاختلاف النووي في ميسليوم ما - يحتوى على نواتين مختلفتين وراثياً - إنما هو ناتج من اتحاد هيفتين أحادتي النواة، كل منهما تختلف عن الأخرى وراثياً، ويطلق على مثل هذا الاتحاد الجسدي اسم «anastomosis». ويعتبر هذا الاتحاد نادر الحدوث، ولكن يمكن تشجيعه عن طريق استعمال سلالات فطرية ذات متطلبات غذائية معينة؛ وهذا يجعلها تنمو تحت ظروف تشجع تكوين الميسليوم المختلف الأنوية؛ مما يميزها عن ميسليوم الأبوين.

وعادةً ما تستخدم سلالات فطرية مكاملة لبعضها من ناحية احتياجاتها الغذائية *nutritionally complementing auxotrophic strains*؛ حيث تنمى على بيئة ذات محتوى غذائي مختار، يعمل على تشجيع نمو الهيفات الفطرية الثنائية الأنوية المتباينة، ولقد أمكن عن طريق مثل هذه الآلية زيادة الإنتاج الحجمي للبندسولين.

ولقد استخدمت حديثاً طريقة اندماج البروتوبلاست، وهي طريقة مباشرة للحصول على هيفات ثنائية الأنوية المختلفة؛ حيث يتم عزل البروتوبلاست من الخلايا النامية للفطر أو الخميرة؛ وذلك عن طريق إزالة الجدار الخلوي؛ عن طريق هضمه باستعمال إنزيمات محللة للجدار؛ حيث يتم ذلك في وسط آسموزي متعادل. ويتم دمج البروتوبلاست الناتج من كل سلالة عن طريق معاملة بمادة بولي إيثيلين جليكول *polyethyleneglycol*، أو عن طريق الدمج الكهربائي *electrofusion*.

وتتم زراعة (إنماء) البروتولاست المندمج على بيئة نمو خاصة مزودة بمادة تحافظ على الضغط الآسّموزي؛ حتى يتم اختيار الهيفات الثنائية الأنوية المختلفة الناتجة. ويعمل الاتحاد البروتوبلاستي على إتمام الدورة فوق الجنسية؛ حيث تنتج عنه أنوية ثنائية المجموعة الصبغية، تنقسم اختزالياً بعد ذلك.

ويتبع أسلوب اختياري للحصول على الهيفات المندمجة الناتجة؛ فعلى سبيل المثال، إذا كانت هيفات فطريات الآباء لا يمكنها تكوين بعض احتياجاتها الغذائية بنفسها، فقد تكون الهيفات الناتجة من الاندماج قادرة على ذلك؛ ومن ثم تنجح في نموها على البيئات الغذائية الفقيرة، في الوقت الذي تفشل فيه الهيفات الأبوية في النمو.

وسرعان ما يجتاز البروتوبلاست المندمج مراحل تخليق جدار خلوي جديد وتكوين هيفات فطرية تنمو مكونة مستعمرات فطرية يتم تداولها بعد ذلك. وتعتبر إزالة الجدر الخلوية للحصول على بروتوبلاست سلالات أنواع مختلفة للفطر من العوامل التي فتحت آفاقاً واسعة للحصول على هيفات ثنائية الأنوية المختلفة ذات تنوع جيني عريض، وفي أسرع وقت.

ومن أمثلة تلك التقنية الحديثة التي أمكن تطبيقها إنتاج سلالات لهيفات فطرية عالية القدرة على إنتاج إنزيم *glucoamylase* من الفطر *Aspergillus niger*؛ وذلك باستخدام سلالتين من الفطر، إحداهما سريعة النمو ولكنها ضعيفة في إنتاجها للإنزيم، بعكس السلالة الثانية، فهي بطيئة النمو، وغزيرة في إنتاجها للإنزيم.

٣ - نقل الصفات الوراثية Transformation :

لقد أحدث اكتشاف حمل خلايا خميرة الخباز *Saccharomyces cerevisiae* للبلازميد عام ١٩٧٠ ثورة في علم الوراثة، وفي الاستخدامات الصناعية لفطريات الخميرة، ثم بعد ذلك في الفطريات الهيفية.

والبلازميد عبارة عن جزء من الحمض النووي DNA في شكلٍ خيطيٍّ أو حلقيٍّ

مغلق . وينتقل هذا البلازميد - بمايحملة من صفات وراثية - من خلية إلى أخرى، دون ارتباطه بنواة الخلية وما تحمله - هي الأخرى - من صفات وراثية .

ويوجد البلازميد في خلايا الخميرة، بالإضافة إلى الحمض النووي الموجود في النواة، وأيضاً الموجود في الميتوكوندريا . ويبلغ طول البلازميد نحو ٢ نانومتر ، ويوجد بصورة حرة في السيتوبلازم أو في النيوكليوبلازم nucleoplasm . والوزن الجزيئي للبلازميد حوالي $3,9 \times 10^6$ دالتون، ويحمل شفرات ستة ببتيدات عديدة polypep- tides تقريباً . وقد يصل عدد النسخ المكررة من البلازميد إلى أكثر من ٦٠ نسخة في كل خلية من خلايا الخميرة؛ وهذا يمثل حوالي ٣٪ من جملة الحمض النووي DNA في الخلية.

وترجع أهمية وجود البلازميد في خلايا فطريات الخميرة إلى إمكانية انتقاله من خلية إلى أخرى حاملاً معه جزءاً من الصفات الوراثية؛ فيما يسمى بعملية نقل الصفات الوراثية transformation ؛ وذلك من خلال الغشاء السيتوبلازمي باستخدام بروتوبلاست خلايا الخميرة .

ويمكن استخدام البلازميد كوسيط ناقل vector؛ لنقل أى جزء مرغوب من كروموسوم سلالة لفطر خميرة ما إلى سلالة أخرى. وتتم تلك التقنية عن طريق إدماج البلازميد المرغوب نقله في سلالة بكتيرية مناسبة ؛ مثل *Escherichia coli*؛ حتى تتكون نسخ مكررة منه بكمية مناسبة، تستخدم بعد ذلك في نقل الصفات المرغوبة.

ويتبع عند نقل الصفة المرغوبة إنتاج بلازميد مهجن، يحمل جزءاً من بلازميد الخميرة، وجزءاً آخر من بلازميد بكتيريا *E.coli*، بحيث يحتوى كل جزء من هذه الأجزاء على المنطقة الخاصة بعمليات النسخ في الخلية، والتي تبدأ منها عملية التخليق أو النسخ . كما يجب أن يحتوى الجزء الخاص ببلازميد الخلية البكتيرية على الجينات المسؤولة عن شفرة مقاومة المضادات الحيوية حتي يمكن الكشف عن الخلايا الحساسة لهذه المضادات.

وكذلك الحال في الجزء الخاص من بلازميد خلية الخميرة، والذي يحمل الصفة المرغوبة المطلوب نقلها - ولتكن تخليق الحمض الأميني ليوسين على سبيل المثال - حيث يمكن الكشف عنه؛ وذلك بإنماء الخلايا على بيئة غذائية خالية من ذلك الحمض الأميني، حيث لا تنمو سوى الخلايا المحتوية على الجزء من البلازميد المستول عن بناء ذلك الحمض الأميني، بينما لا تنمو الخلايا الأخرى الخالية منه.

ولكى يقوم هذا البلازميد بدوره في نقل الصفة الوراثية المرغوبة، يتم نقل الجزء الخاص بشفرة إنزيمات قطع الأحماض النووية restriction endonuclease؛ حيث تعمل هذه الإنزيمات على السماح بدخول أجزاء من الحمض النووي DNA تحمل الجينات ذات الصفات المرغوبة؛ وذلك لأن إنزيمات قطع الأحماض النووية تعمل على كسر روابط محددة في أماكن خاصة على طول الحمض النووي DNA.

ويعتبر بلازميد *E. coli* PBR322 من أهم البلازميدات التي تحمل منطقة *Bam* HI، وهي المنطقة التي تحمل شفرات إنزيمات قطع الأحماض النووية، بالإضافة إلى حملها للجينات المسؤولة عن مقاومة المضاد الحيوي تتراسيكلين. ويعنى ذلك أن ظهور صفة المقاومة لهذا المضاد الحيوي على عزلات الفطر تدل على انتقال إنزيمات قطع الأحماض النووية إلى مثل هذه العزلات. وبهذه الطريقة أمكن تطوير نظام يسمح بالكشف عن البلازميدات المنتقلة إلى خلايا الأحياء الدقيقة (فطريات هيفية - خمائر - بكتيريا).

وبهذه الطريقة، أمكن نقل أجزاء من الحمض النووي DNA للفطر *Neurospora crassa* بين سلالات النوع الواحد بنجاح، وكذلك تم نقل أجزاء من الحمض النووي بعد إدماجها في بلازميد بكتيريا *E. coli*. وفي تجارب أخرى، أمكن نقل بعض صفات الفطر *Penicillium chrysognum* باستخدام الحمض النووي DNA الفيروسي؛ الذي يتميز بقدرته على التضاعف داخل خلايا بكتيريا *E. coli*.

ويؤدي نجاح مثل هذه التجارب إلى إمكانية تعديل الصفات الوراثية للفطريات الهيفية ذات الأهمية الخاصة والاستخدامات الصناعية، والتي يعود الفضل فيها إلى اكتشاف البلازميد في خلايا الخميرة، ثم في خلايا الفطريات الهيفية بعد ذلك.

ولقد شارك كثير من الباحثين بتجاربهم الناجحة لنقل صفات معينة بين سلالات بعض الفطريات الهيفية؛ مثال ذلك؛ الفطر *Neurospora crassa* ، والفطر *Aspergillus nidulans*. بينما صاحب الأبحاث على فطريات هيفية أخرى بعض التعديلات على الطرق المستخدمة التي سبقت الإشارة إليها.

ويعتمد نظام النقل الوراثي في الجنس *Aspergillus* على استخدام طفرات محدودة النمو من الفطر *A. nidulans*. ومن ثم فإنه يمكن التأكد من تمام عملية نقل الصفات الوراثية من خلال الكشف عن الصفة الوراثية المفقودة في النوع البري، والتي تم نقلها إلى النوع *A. nidulans*؛ وذلك عن طريق اختيار المستعمرات الفطرية ذات القدرة على النمو في غياب العنصر الغذائي في البيئة، والذي يمكن لسلالة الفطر تمثيله بنفسها.

وهناك عدد من الدلائل الوراثية التي يمكن استخدامها في عمليات النقل الوراثي باستعمال الفطر *A. nidulans*؛ منها طفرة احتياج الفطر لليوريدين؛ حيث لا يستطيع الفطر تمثيلها بنفسه؛ نظراً لغياب إنزيم-orotidine-5-phosphate decarboxylase، وطفرة احتياج الفطر للاسيتاميد؛ وذلك نظراً لغياب إنزيم acetamidase، وطفرة الاحتياج إلى التريوتوفان؛ وذلك نظراً لغياب جين Tryptophan gene (TrpC)، وطفرة الاحتياج إلى الحمض الأميني أرجينين؛ نظراً لغياب جين arginine gene (argB).

وتعتمد الآلية المستخدمة في عمليات نقل الصفات الوراثية في الفطريات الهيفية على إدخال الجينات المطلوب نقلها في أحد بلازميدات بكتيريا *E. coli*؛ مثل PBR322، أو يتم تركيب بلازميد من المادة الوراثية لكلٍ من بكتيريا *E. coli* وخميرة *Saccharomyces cerevisiae*، ثم تجهيز بروتوبلاست الخلية المستقبلة لدخول البلازميد وخلطة مع البلازميد.

ويتبع ذلك فترة قصيرة من التحضين؛ حتى يسمح بالتقاط الحمض النووي DNA البلازميدي ودخوله إلى البروتوبلاست. ويتم بعد ذلك إجراء مسح للبحث عن الخلايا التي تم فيها دخول البلازميد؛ وذلك عن طريق اختبار الدليل الغذائي المتخصص *spe-cific nutritional marker*.

وتدل نتائج الدراسات السابقة على أن معدل نجاح نقل الصفات الوراثية منخفض؛ حيث يمكن الحصول على نحو ١٠-٢٠ خلية معدلة لكل ميكروجرام واحد من الحمض النووي DNA. إلا أن تطوير هذه التقنية أدى إلى زيادة معدل النجاح إلى أكثر من ٥٠٠ خلية معدلة لكل ميكروجرام واحد من الحمض النووي.

وأظهرت الدراسات أيضاً أن أكثر الخلايا التي تم تعديلها هي تلك التي حدث لها نقل جينات إلى الكروموسوم عند بدء نقطة التحلل الأساسية على الكروموسوم.

ولقد تم تحويل السلالات التجارية غير المطفرة من الفطر *A.niger*؛ وذلك باستعمال جين *amdS* من الفطر *A.nidulans*؛ وذلك لأن الفطر الأول ضعيف النمو على الأسيتاميد؛ كمصدر وحيد للنيتروجين؛ نظراً لعدم احتوائه على جين *amdS*.

ونتيجة لما سبق، فإن استخدام الجين *amdS* في نقل الصفات الوراثية بين الفطريات الهيفية، مع استعمال الدلائل الغذائية أدى إلى زيادة الكفاءة لاستبداء دخول هذا الجين في الفطريات ذات الأهمية الصناعية.

٤- قدرة الخلايا على دمج الحمض النووي وإنتاج البروتينات:

أدت التطبيقات الحديثة لطرق دمج الحمض النووي DNA في الخمائر والفطريات الهيفية إلى فتح آفاق جديدة لإنتاج كائنات حية متطورة عالية الإنتاج. وبالإضافة إلى ذلك استعملت الفطريات الهيفية كوعاء حيوي يتم فيه إنتاج أنواع عديدة من البروتينات ذات الأهمية الاقتصادية العالية.

ويرجع تفضيل استعمال الفطريات الهيفية في هذا الغرض إلى أن عمليات ترجمة إنتاج البروتينات المتخصصة يمكنها أن تصل إلى معدلات إنتاجية مرتفعة، بالإضافة إلى

قدرة هذه الفطريات على إفراز كميات كبيرة من الإنزيمات الخارجية في بيئة النمو؛ مما يسمح بالوصول إلى الإنتاج التجارى بسهولة.

وهناك مجموعة من العوامل التى تجب مراعاتها حتى يمكن إنتاج مثل هذه البروتينات المتخصصة بواسطة الفطريات الهيفية؛ أهمها:

* زيادة كفاءة الجينات المسؤولة المتخصصة فى دورات تخليق نواتج التمثيل الغذائى؛ مما يؤدى إلى تحسين إنتاجية هذه النواتج.

* زيادة كفاءة الترجمة، وإنتاج البروتينات المتخصصة، سواء أكانت متجانسة أم غير متجانسة؛ وذلك لتحسين عملية إنتاج الإنزيمات، أو أية بروتينات أخرى نشطة حيويًا.

ولقد أدى تطور عمليات نقل الحمض النووى DNA - فى معظم الحالات - إلى أنه أصبح فى الإمكان استخدام الفطر *Aspergillus* كوعاء حيوى لإنتاج بروتينات الاتحاد الوراثى؛ مثال ذلك إنتاج عديد من البروتينات ذات التأثيرات العلاجية للإنسان؛ كهرمونات النمو، والسيبتوكينينات، وغير ذلك من هرمونات أخرى ذات طبيعة بروتينية يتم تخليقها عن طريق الفطر *Aspergillus* بعد نقل نظام تخليق هذه الهرمونات البروتينية إليه.

ويفضل استخدام الفطريات فى مجال إنتاج الهرمونات ذات الطبيعة البروتينية على استخدام الكائنات الحية الأخرى الأولية النواة - كالبكتيريا - ويرجع ذلك إلى أن عمليات نسخ الجينات وترجمتها عن طريق تلك الكائنات الأولية النواة (مثل بكتيريا *E.coli*) ينتج عنها بروتينات ينقصها بعض التراكيب الكيميائية الهامة؛ مثل الروابط الكبريتية، والنهايات الطرفية لمجموعة الأمين.

وبالإضافة إلى ماسبق، فإن البكتيريا لا تستطيع - عادةً - استكمال جميع عمليات التعديل مثل glycation؛ وهذا يحدد - عادةً - استخدامها على نطاق واسع فى جميع

عمليات التعديل الوراثي، أو استخدامها كوعاء حيوي لإنتاج مركبات جديدة؛ وهذا مادفع الباحثين إلى الاعتماد على الكائنات الحية الدقيقة ذات النواة الحقيقية - كالفطريات - في إنتاج البروتينات المتجانسة *homologous protein production*.

وتعتبر خميرة الخباز *Saccharomyces cerevisiae* أكثر الفطريات المستخدمة كأوعية حيوية في إنتاج البروتينات؛ سواء داخل الخلية نفسها *intracellular pro-teins*، أم تلك البروتينات المفرزة خارج الخلية *secreted proteins*. ويلاحظ أن إنتاج البروتينات الداخلية يحتاج إلى مستويات عالية من الاتحاد الوراثي، بينما كان الاتحاد الوراثي في إنتاج البروتينات الخارجية أقلّ نجاحاً.

ومن ناحية أخرى، تعتبر الفطريات الهيفية والخمائر عوائل بديلةً لكائنات حية حقيقية النواة ذات قيمة عالية؛ وذلك لأنها ذات قدرة عالية على إفراز كميات كبيرة من البروتينات المعاد توفيقها *recombinant proteins*.

وترجع معظم التطورات التي تم الوصول إليها في مجال إنتاج البروتينات من الفطريات الهيفية إلى اتباع تقنية الهندسة الوراثية باستعمال الفطر *Aspergillus nidulans* - على الرغم من أنه لا يمثل أهمية كأحد الفطريات المستخدمة في الصناعة - إلا أنه يمثل نموذجاً وراثياً تجرى عليه مثل هذه التجارب.

ويحتاج تطوير نظام إنتاج البروتينات الذي سبقت الإشارة إليه - في أي كائن حي - إلى عامل ناقل *expression vector* وتقنية لنقل الحمض النووي DNA إلى العائل المناسب. ولقد توصل كثير من الباحثين إلى تطوير هذا النظام في الفطريات الهيفية بنجاح كبير.

ولقد تم نقل عديد من الجينات في الفطر *Aspergillus*، والتي تشمل مواد نشطة حيويًا؛ مثال ذلك الكيموسين البقري (المنفحة) *bovine chymosin*، وبعض الإنزيمات الفطرية ذات الأهمية التطبيقية؛ مثل إنزيم تحليل البروتين *protease*، وتحليل الدهون *lipase*، بالإضافة إلى إنزيم إندوجلوكانيز البكتيري *bacterial endoglu-canase*.

وهناك بروتينات أخرى ذات أهمية علاجية -pharmaceutically important pro-teins يمكن أيضاً إنتاجها باستعمال الفطر *A.nidulans*؛ مثال ذلك البروتين النشط *human interferon alpha*، وهو يعتبر عاملاً فعالاً مضاداً للفيروسات -active anti-ral agent، علاوة على أنه من المواد التي تم اكتشاف قدرتها كمادة مضادة للسرطان . anticancer agent.

ومن المواد الأخرى التي تم إنتاجها باستخدام تلك التقنية الحيوية مادة منشطة لأنسجة الإنسان *human tissue plasmingen activator (t-PA)*، والتي صنعت وأفرزت بواسطة الفطر *A. nidulans*. وبالإضافة إلى ذلك تم إنتاج بروتينات بشرية أخرى ذات أهمية علاجية باستخدام نفس التقنية الحيوية؛ مثال ذلك عامل نمو الجلد *epidermal growth factor (EFG)*، وهرمون النمو *human growth hormone (hGH)*، ومادة *interleukin -6- and corticosteroid* المرتبطة بالجلوبيولين -globulin.

ويتميز فطر *A.nidulans* بأن البروتين المعاد توقيقه *recombinant protein* في خلاياه -الذي يقوم بإفرازه بعد ذلك- يتطابق مع البروتينات التي تنتجها خلايا الحيوانات الثديية؛ وعلى ذلك فإن استخدام هذا البروتين في علاج الإنسان يكون مأموناً.

وكذلك الحال في الإنزيمات الداخلية؛ حيث أمكن نقلها بنجاح من خلية الإنسان إلى خلايا الفطر *Aspergillus*؛ ومن أهمها الإنزيم البشري *copper-zinc superoxid dismutase* والذي يستخدم في علاج بعض أمراض الروماتيزم؛ حيث أمكن تخليقه بمستويات عالية في خلايا الفطر.

كما نجحت عمليات دمج البروتينات في خلايا الخميرة المحبة للميثيل -methylo-trophic yeast (*Pichia pastoris*)؛ وذلك عن طريق بعض الباحثين في معهد فيليب للبتترول *Phillips Petroleum Institute*؛ حيث تم إنتاج عديد من البروتينات الداخلية؛

مثل عامل موت الخلايا المتضخمة **tumour necrosis factor**، وإنزيم **strep-tokinase**، وهورمون نمو سمك السلمون **salmon growth hormone**، مركب جاما إنترفيرون **interferon gamma** والبيومين سيرم الدم البشرى **human serum albumin**، وانتيجينات مرض نقص المناعة (الإيدز) **HIV**.

وبالإضافة إلى ماسبق، شمل إنتاج البروتينات الخارجية المفرزة من خلايا الفطر إلى البيئة التى ينمو فيها إنزيم الإنفرتاز **invertase**، والبيومين سيرم الدم البشرى، وأيضاً منشط بلازمينوجين الأنسجة **tissue plasminogen activator**، والليسوزيم البقرى **bovine lysozyme**.

ومن ناحية أخرى استخدم مؤخراً الفطر *Trichoderma reesei* فى إنتاج البروتينات المتجانسة وغير المتجانسة؛ حيث عدّل الباحثون **Usitalo et al** فى دراستهم المنشورة عام ١٩٩١ من صفات سلالاتٍ تابعةٍ للفطر السابق، واستخدموها فى إنتاج خليطٍ من الإنزيم المحلل للسليلوز **cellulase** ذى الأهمية البالغة فى التقنية الحيوية. وأيضاً أمكن استخدام أنواعٍ أخرى من الفطر *Trichoderma* فى إنتاج منفحة العجول **calf chy-mosin**، وفى إنتاج بروتيناتٍ أخرى من أصولٍ مختلفة.

الباب السابع

التجمرات الصناعية

التخميرات الصناعية

أولاً : المواد المستخدمة في التخميرات الصناعية :

يجب أن تحتوى جميع البيئات المستخدمة فى تنمية الكائنات الحية الدقيقة على العناصر الغذائية اللازمة لنموها، وفى صورة صالحة لتخليق جميع مكونات الخلية، بالإضافة إلى نواتج التمثيل الغذائى (الأولى أو الثانوى) المطلوب إنتاجها.

وعادةً ما تستخدم مركبات كيميائية نقية محددة التركيب عند تجهيز البيئات المستخدمة خلال الدراسات التى تجرى فى المعامل البحثية، أما بالنسبة إلى التخميرات الصناعية التى تجرى فى المصانع على نطاق واسع، فإنه لا يمكن استخدام مثل هذه المركبات الكيميائية النقية الباهظة الثمن، ولكن يستخدم بدلاً منها بعض النواتج الثانوية لعمليات التصنيع الغذائى أو المخلفات الزراعية.

وتتميز تلك النواتج الثانوية بانخفاض سعرها، وخاصة أن نسبة عالية جداً من تكاليف التخمير - تتراوح بين ٢٥٪ و ٧٠٪ - تعتمد على مصدر المواد الكربوهيدراتية المستخدمة. إلا أنه يعيب مثل هذه المواد أنها غير محددة التركيب، بل وفى أحيان كثيرة يتم استخدام مخلوط من أنواع مختلفة من هذه المواد المتباينة التركيب.

وخلال عمليات التخمير الصناعى تجب مراعاة الآتى :

* استخدام بيئة غذائية مثالية متوازنة، تحتوى على جميع العناصر الغذائية الضرورية

لنمو الكائن الحي المستخدم فى عملية التخمير، وتركيزات مناسبة. وفى بعض الأحيان يلجأ القائمون على العمل إلى استخدام برنامج معين فى الحاسب الآلى؛ للوصول إلى التركيزات المثالية التى يجب الالتزام بها؛ للحصول على أفضل ناتج من التخمير الصناعى كما ونوعاً.

* يجب تحليل مكونات البيئة الغذائية المستعملة فى التخمير الصناعى بصورة دورية؛ وذلك للتأكد من كفاءتها الإنتاجية. وعادةً ما تجرى بعض التجارب الأولية على المواد الغذائية المقترح استخدامها لأول مرة فى التخمرات الصناعية، قبل استخدامها فى الإنتاج التجارى.

* يجب حساب معدل الإنتاج بصورة دورية، والتأكد من حسن سير عملية التخمير والمواد الناتجة منها.

* يجب التأكد من توافر المواد الخام المستخدمة فى تجهيز البيئة الغذائية المستعملة لتنمية الكائن الحي خلال عملية التخمير الصناعى، وعادةً ما يلجأ القائمون على العمل إلى تخزين كميات وفيرة من هذه المواد الخام فى مخازن خاصة قريبة من موقع العمل.

١- المواد الكربوهيدراتية :

من أهم مصادر الكربون المستخدمة فى هذه البيئات الغذائية المواد الكربوهيدراتية. ونادراً ما تستخدم السكريات النقية - كالجلكوز والسكروز - كمصدر كربوهيدراتى فى التخمرات الصناعية، ولكن عادةً ما تستخدم بعض النواتج الثانوية للصناعات الغذائية؛ مثل المولاس الذى ينتج عن صناعة السكر؛ سواء من القصب، أم من البنجر.

ويتميز المولاس باحتوائه على نسبة عالية من السكريات، بالإضافة إلى بعض المواد النيتروجينية والفيتامينات والعناصر المعدنية. ويختلف تركيب المولاس تبعاً لمصدره. ويوضح جدول (٥) تركيب كلٍّ من المولاس الناتج من قصب السكر، وبنجر السكر.

كما يختلف تركيب المولاس تبعاً لمكان زراعة المحصول، والظروف البيئية التى تعرض لها، وخاصة درجات الحرارة، والرطوبة النسبية. وكذلك تلعب طريقة

جدول (٥) : مقارنة المحتوى الغذائي (%) بين كل من مولاس القصب ومولاس البنجر.
عن (Crueger & Crueger, 1990)

مولاس البنجر	مولاس القصب	المكون %
٨٤-٧٧	٨٥-٧٨	المادة الجافة %
٣٣,٤	٤٨,٥	السكر
-	١,٠	الرافينوز
٢١,٢	١,٠	السكريات المحولة
١٩,٦	٢٠,٧	مواد عضوية أخرى
١,٥-٠,٤	٢,٨-٠,٢	النتروجين
٢,٠-٠,٦	٠,٠٧-٠,٠٢	الفوسفور
١,١-٠,١	٠,٧-٠,١٥	الكالسيوم
٠,١-٠,٠٣	٠,١-٠,٠١	المغنسيوم
٥,٠-٢,٦	٤,٥-٢,٢	البوتاسيوم
-	٠,٥-٠,١	السيليكون
-	٠,٠٦-٠,٠٠٥	الألمنيوم
-	٠,٠٢-٠,٠٠١	الحديد
١١-٧	٨-٤	الرماد
٨٣٠	١٣٠	الشايمين*
٢٥٠	٤١	الريبوفلافين*
٦٥٠	٥٤٠	البيريدوكسين*
٢١٠٠	٥١٠٠	النياسين*
٣,٨	٢١	حمض الفوليك*

* ميكروجرام / ١٠٠ جرام مادة جافة.

استخلاص السكر في المصنع دوراً كبيراً في تركيب المولاس المتخلف عن صناعة السكر.

وهناك مواد أخرى تستخدم كبيئة غذائية لتنمية الأحياء الدقيقة في التخمرات الصناعية؛ مثال ذلك المتخلفات الناتجة من إنتاج الجلوكوز من النشا، وكذلك متخلفات المولت الناتجة من صناعة البيرة.

ويتميز متخلف المولت بأنه من أفضل البيئات المستخدمة في تنمية الفطريات الهيفية والخمائر؛ نظراً لاحتوائه على عناصر غذائية كافية لنموها؛ فلقد أوضحت عديد من الدراسات احتواء مستخلص المولت الجاف على نحو ٩٠٪ - ٩٢٪ مواد كربوهيدراتية؛ حيث يمثل المالتوز حوالي ٥٢,٢٪ منها، والسكريات السداسية (مثل الجلوكوز والفركتوز) على حوالي ١٩,١٪، بينما لا يمثل السكروز إلا حوالي ١,٨٪ من هذه المواد الكربوهيدراتية، كما تحتوى هذه المواد على ١٥,٠٪ دكستريناً.

وتمثل المواد النتروجينية حوالي ٤,٦٪ من مستخلص المولت الجاف، بينما تصل نسبة المعادن إلى نحو ١,٥٪. وتضم هذه المواد النتروجينية مركبات مختلفة؛ مثل: البروتينات، والببتيدات، والأحماض الأمينية، والقواعد النتروجينية. ومن أهم الأحماض الأمينية الموجودة في مستخلص المولت حمض البرولين؛ الذي يمثل نحو نصف كمية الأحماض الأمينية الكلية. كما توجد نسبة من الفيتامينات في مستخلص المولت.

ويعتبر النشا والدكسترين -ونواتج تحللهم- من الخامات الهامة المستخدمة في التخمرات الصناعية، وخاصة عند تنمية الأحياء الدقيقة المنتجة لإنزيم الأميلاز -amy-lase؛ فعلى سبيل المثال تعتمد البرازيل في إنتاج كحول الإيثانول على استخدام نشا الكاسافا، الذي يصل محصولها منه إلى حوالي ٩ مليون طن سنوياً.

كما يستخدم محلول الكبريتيت المتخلف عن صناعة الورق -sulfite waste liquor؛ والذي يحتوى على حوالى ٩٪-١٣٪ مواد صلبة، بالإضافة إلى نحو ٢-٣٪ سكريات خماسية وسداسية. وتتوقف كمية ونوعية المواد الصلبة والسكريات الموجودة في هذا المحلول المتخلف عن صناعة الورق على نوع الأشجار المستخدمة في هذه الصناعة. ويعتبر هذا المحلول من المواد الشائع استخدامها كبيئة غذائية لتنمية الفطريات الهيفية أو الخمائر خلال عمليات التخميرات المختلفة.

وبالإضافة إلى ماسبق، تتجه الدراسات الحديثة إلى استخدام المخلفات الزراعية السيليلوزية والليجنوسيليلوزية -مثل قش الأرز، وقوالب الذرة، ومصاصة القصب، وتبن القمح، والمخلفات الصلبة الناتجة من صناعة الورق، ومخلفات مصانع الأغذية- في التخميرات الصناعية.

ومن المخلفات الأخرى المستعملة في التخميرات الصناعية مخلفات مصانع منتجات الألبان؛ مثل الشرش whey وراشح اللبن permeate؛ حيث يصل الإنتاج العالمى منها إلى أكثر من ٨٠ مليون طن سنوياً تحتوى على نحو ١,٥ مليون طن من سكر اللاكتوز، يمكن الاستفادة منها في كثير من الصناعات التخميرية.

وفي بعض الحالات يمكن استخدام الدهون والشحوم الحيوانية، وكذلك بعض الزيوت النباتية كإضافات للبيئات المستخدمة في تنمية الأحياء الدقيقة خلال عملية التخمير، إلا أنه من النادر استخدام مثل هذه المواد كمصدر وحيد للكربون.

٢- المواد النتروجينية :

أما بالنسبة إلى المصدر النتروجينى المستخدم في تنمية الأحياء الدقيقة خلال التخميرات الصناعية، فيستخدم -عادة- أملاح الأمونيوم أو اليوريا أو غاز الأمونيا. كما تستخدم مخلفات صناعة النشا من الذرة corn steep liquor في التخميرات؛ نظراً لاحتوائها على حوالى ٤٪ من المواد النتروجينية المحتوية على عديد من الأحماض الأمينية المختلفة.

وبالإضافة إلى ماسبق، يمكن استخدام مستخلص الخميرة أو الببتون ومشتقاته، أو دقيق فول الصويا كمصدر نيتروجيني. ويتم تجهيز مستخلص الخميرة عن طريق تحليل خميرة الخباز ذاتياً، وقد تجهز عن طريق بلزمة الخلايا باستخدام ملح كلوريد الصوديوم. ويوضح الجدول التالي محتويات مستخلص الخميرة المجهز بالطريقتين السابقتين :

جدول (٦) : تركيب مستخلص الخميرة المجهز عن طريق التحلل الذاتي أو عن طريق البلزمة باستخدام ملح كلوريد الصوديوم.

المكون	مستخلص الخميرة الناتج بالتحلل الذاتي	مستخلص الخميرة الناتج عن طريق البلزمة
إجمالي المواد الصلبة %	٧٠	٨٠
النيتروجين الكلي	٨,٨	٧,٤
البروتين	٥٥	٤٦
كلوريد الصوديوم	أقل من ١,٠	١٨
المحتوي من الفيتامينات (جزء في المليون)		
الثيامين	٣٠-٢٠	١٥-١٠
الريبوفلافين	٧٠-٥٠	٧٠-٥٠
البيريدوكسين	٣٥-٢٥	٣٠-٢٠
النياسين	٦٠٠	١٠٠
حمض البنتوثينيك	٢٠٠	٣٥٠

ويمكن إنتاج الببتون من مصادر مختلفة؛ كالحوم، والكازين casein، والكيراتين keratin، ويزور القطن، ويزور الفول السوداني، ويزور عباد الشمس، ويزور فول الصويا، وغير ذلك من المصادر؛ ونتيجة لذلك يتوقف تركيب الببتون وفقاً لمصدره.

فعلى سبيل المثال، يتميز البيتون الناتج من الجيلاتين بخلوه من الأحماض الأمينية الكبريتية، إلا أنه غنى بأحماض البرولين والهيدروكسي برولين. وكذلك الحال فى البيتون الناتج من الكيراتين؛ فهو يخلو من الحمض الأميني ليسين، ولكنه غنى فى البرولين والسستين. ويحتوى البيتون المحضر من مصدر نباتي على كمية كبيرة من الكربوهيدرات.

وتلعب طريقة تحضير البيتون دوراً كبيراً فى تركيبه؛ سواء أكان التحضير بالطريقة الإنزيمية، أم بالطريقة الحامضية. ويوضح جدول (٧) تركيب الأنواع المختلفة من البيتون طبقاً لطريقة تحضيرها.

ومن ناحية أخرى، نلاحظ أن دقيق فول الصويا -وهو مخلف ناتج من استخلاص زيت فول الصويا- يحتوى على ٣٠٪ مواد كربوهيدراتية، و ٥٠٪ بروتينات، بالإضافة إلى ١,٨٪ ليسيثين Lecithin. وتشتمل المواد الكربوهيدراتية فى دقيق فول الصويا على السكروز والرافينوز والستاكيوز، بالإضافة إلى بعض السكريات العديدة. ويستخدم دقيق فول الصويا كمادة لإنماء بعض الفطريات المستخدمة فى التخميرات الصناعية؛ كما هى الحال فى إنتاج المضادات الحيوية.

٣. المواد الإضافية :

وبالإضافة إلى كلٍ من المصادر الكربونية والنتروجينية التى سبقت الإشارة إليها، نلاحظ أنه فى بعض الحالات يحتاج إنتاج مادة ما بواسطة الفطر خلال مرحلة التخمير إلى وجود مادة محفزة، قد تتم إضافتها مرة واحدة عند بداية الإنتاج، أو تضاف بصورة دورية للحفاظ على مستوى إنتاج المادة المرغوبة.

وقد يحتاج الأمر إلى إزالة بعض الأملاح المتكونة فى البيئة خلال عملية التخمير؛ حيث يؤدى وجودها إلى انخفاض معدل إنتاج المادة المرغوبة؛ فعلى سبيل المثال يؤدى أملاح الأمونيوم إلى تقليل استفادة الفطر بالأحماض الأمينية الموجودة فى البيئة؛ وذلك من خلال تأثير هذه الأملاح على الإنزيمات الناقلة للأحماض الأمينية عبر الجدار الخلوى.

جدول (٧) : محتوى الببتون المستخلص بطرق مختلفة . عن (Crueger & Crueger, 1990)

التركيب	ببتون من كازين محلل انزيمياً	ببتون من كازين معامل بالحموضة	ببتون من دقيق الصويا محضر بالإنزيمات
اجمالي المادة الصلبة	٩٥,٢	٩٦,٥	٩٦
الرماد %	٥,٨	٣٩,٧	١٤,٠
النتروجين الكلي	١٢,٨	٨,٣	٩,٢
النتروجين الأميني	٦,٧	٦,٤	١,٨
كلوريد الصوديوم	٣,٠	٣٨,٠	٥,٩
الكربوهيدرات	—	—	٢٩,٠
الأحماض الأمينية الحرة (مللجم / جرام)			
ألانين	١٦,٨	١٤,١	٣,٣
أرجنين	٣٠,٢	٥,٠	١,١
حمض إيسارتيك	٨,٧	٣٣,٢	٢,٤
سستين	—	٠,٧	—
حمض جلوتاميك	٣٨,٦	٧٩,٦	٥,٦
جليسين	٤,٤	٩,٣	٢,٣
هستيدين	١٣,٣	٤,٦	١,١
ايزوليوسين	٢٩,٩	١٠,٧	٢,٨
ليوسين	٧١,٩	٢٩,٧	٩,٤
ليسين	٦١,١	١٢,٨	٧,٩
مثنونين	٢٢,٧	١١,٢	٣,٣
فينيل ألانين	٣٣, —	٩,٧	٣,٧
برولين	٧,٤	٣٤,٥	٠,٨
ثريونين	٢١,٥	١٣,١	١,٩
تريثوفان	٨,٦	٠,٠٥	١,٦
فالين	٣٦,٤	١٦,٧	٣,٨
تيروسين	١٤, —	٤,٩	٠,٧
سيرين	٢٨,٧	١٩,٨	٤,٨

وهناك كثير من الفطريات المستخدمة في التخميرات الصناعية تحتاج في نموها إلى تركيز منخفض من الفوسفات خلال عملية التخمير وإنتاج المادة المرغوبة، لذا يعمد القائمون على العمل إلى إضافة أملاح الكالسيوم إلى بيئة التخمير؛ بغرض ترسيب أملاح الفوسفات الزائدة على الحاجة.

ومن العناصر الأخرى المحددة لإنتاج المضادات الحيوية -مثل البنسلين- تركيز كلي من الحديد والزنك، بينما يلعب المنتج دوراً هاماً في إنتاج حمض الستريك، ويرجع تأثير هذه المعادن إلى دورها الحيوي الهام في تثبيط أو تنشيط بعض الإنزيمات المؤثرة على كفاءة الفطر في تخمير البيئة الغذائية التي ينمو عليها وتكوين المنتج المرغوب.

وعلاوة على ماسبق، تؤثر بعض المركبات العضوية على إنتاج المواد ذات الأهمية الصناعية؛ كما هي الحال في تأثير إنتاج البنزويل بنسلين *benzyl penicillin* بمادة حمض الفينيل خليك *phenylacetic acid*؛ وهذا يجعل من الأهمية بمكان متابعة مكونات بيئة التخمير التي ينمو فيها الفطر؛ حتى يمكن الحصول على أفضل منتج.

كما تؤثر مكونات البيئة الغذائية على كفاءة إنتاج المادة المرغوبة؛ وذلك من خلال تأثيرها على الحالة الفسيولوجية للفطر المستعمل في التخمير الصناعي، وكذلك على طبيعة نموه؛ فعلى سبيل المثال وجد أن الفطر *Aspergillus niger* المستخدم في إنتاج حمض الستريك يكون في أفضل حالاته عندما تكون نمواته على شكل كرات صغيرة متماسكة من هيفات الفطر.

وكذلك الحال عند إنتاج حمض الايتاكونيك باستخدام الفطر *Aspergillus terre-* *us*؛ حيث تتكون تلك الكتل الهيفية القصيرة المتجمعة في شكل كروي. وعلى العكس من ذلك عند إنتاج حمض الفيوماريك باستخدام الفطر *Rhizopus arrhizus*؛ حيث تنمو هيفات الفطر بصورة خيطية متفرعة، وأيضاً عند إنتاج البنسلين باستخدام الفطر *Penicillium chrysogenum*.

ويلعب رقم حموضة البيئة دوراً في طبيعة النموات الهيفية الفطرية؛ ففي البيئات

القليلة القلوية إلى المتعادلة يكون النمو الفطري على صورة هيفاتٍ خيطية، وخاصةً عند إضافة حمض الألجينيك *alginic acid* أو الكاربوكسى ميثيل سيليلوز CMC، وأيضاً عند إضافة العناصر المعدنية الثنائية التكافؤ إلى بيئة نمو الفطر؛ حيث يؤدي ذلك إلى تثبيط النمو الخيطي الطبيعي للهيفات الفطرية؛ وذلك من خلال تأثيرها على الجدار الخلوي؛ مما يؤدي إلى تجمع هذه القطع الهيفية في شكل كراتٍ صغيرة متماسكة.

وهناك بعض المواد الناتجة من التخمرات الصناعية يتم تكوينها في مرحلة تجرثم الفطر؛ ومن ثم تؤثر مكونات البيئة على تجرثم الفطر وعلى بدء تكوين هذه النواتج المرغوبة؛ فمثلاً يعمل التركيز المنخفض من المركبات النتروجينية في البيئة الغذائية على دفع الفطر للتجرثم، وتكوين المواد المرغوبة الناتجة من التخمر في نفس الوقت، بينما يؤدي وجود تركيزاتٍ مرتفعةٍ من الأحماض الأمينية إلى تأخير عملية التجرثم؛ ومن ثم خفض الإنتاجية.

ثانياً : تكنولوجيا التخميرات الصناعية :

تعتمد عملية إنتاج المواد الكيميائية حيويًا باستعمال الفطريات على إنماء بعض الأنواع المختارة العالية الإنتاج **selected high-yielding species** في بيئة غذائية سائلة تملأ أوعية عملاقة. ومن البدائل المستعملة حديثاً في هذا المجال إنماء الفطر على مواد صلبة؛ مثل نشارة الخشب أو القش، فيما يسمى بـ «تخمير المواد الصلبة **solid state fermentation**».

ويستلزم إجراء عملية التخمير الصناعي بواسطة الفطريات وجود مواد صالحة لإنماء الفطر عليها، يطلق عليها اسم **substrate (feedstock)**؛ وهي عادةً ما تكون مواد سكرية مثل السكر أو الجلوكوز أو اللاكتوز، وقد تكون مادة كحولية، أو تكون مخلفات سائلة ناتجة من التصنيع الغذائي؛ مثال ذلك نواتج التقطير، أو صناعة الحلوى. ولقد استخدمت مثل هذه المواد المتخلفة عن الصناعة في كثير من التخميرات الصناعية كمصدر للمواد الكربوهيدراتية، إلا أنه تجب مراعاة إضافة مصدر نيتروجيني مناسب لاستكمال الاحتياجات الغذائية للفطر وإنتاج المادة المرغوبة، وأيضاً إضافة العناصر الصغرى والفيتامينات اللازمة لنمو الفطر ونشاطه الحيوى.

وحيث إن الفطريات كائنات تحتاج إلى الهواء؛ لذا فإن مراحل الإنتاج الصناعي في البيئات السائلة تستلزم إجراء عملية التهوية، أو دفع غاز الأكسجين في محلول بيئة النمو التي تنمو فيها مثل هذه الفطريات.

ونظراً لانخفاض معدل ذوبان غاز الأكسجين في الماء نسبياً، فإن معدل نقل الأكسجين وامتصاصه داخل الخلية الفطرية يعتبر أحد العوامل المحددة في الإنتاج

الصناعى؛ لذا فإنه من الضروري إتاحة أقصى كمية من الأكسوجين فى محلول بيئة نمو الفطريات المستخدمة فى الإنتاج الصناعى بأقل تكاليف ممكنة؛ حيث إنه من الشائع اتباع أسلوب التقليب فى خزانات التنمية العملاقة المستخدمة فى التخمر الحيوى، والتي يطلق عليها اسم «المفاعل الحيوى bioreactor».

١- تخمر البيئات السائلة Submerged fermentation :

يمكن تنمية الفطريات المستخدمة فى التخمرات الصناعية؛ سواء فى مزارع على دفعات batch cultures، أم فى مزارع مستمرة continuous cultures. وعلى الرغم من أن تنمية الفطر على دفعات يعمل على تشجيع إنتاج كتلة حيوية biomass كبيرة تتكون من النموات الفطرية وتكاليف قليلة نسبياً، إلا أن استخدام المزارع المستمرة يلقي قبولاً أكثر لدى العاملين فى مجال التخمرات الصناعية.

ويقصد بالمزرعة المستمرة -كما هو واضح من تسميتها- أنها تُمد دائماً ببيئة غذائية جديدة تحتوى على جميع الاحتياجات اللازمة لنمو الفطر واستمرار نشاطه، مع وجود إحدى المواد المستخدمة فى البيئة كعامل محدد للنمو.

وفى مثل هذه المزارع المستمرة لا يتطلب الحصول على المواد المنتجة تفريغ الخزان المحتوى على بيئة النمو، ثم إعادة تعقيمه تمهيداً لإنماء الفطر مرة أخرى على بيئة جديدة. فإذا ما تجنبنا ذلك باتباع أسلوب المزرعة المستمرة، وفّرنا كثيراً من الوقت والجهد والتكاليف الباهظة.

وتتميز المزارع المستمرة -بالإضافة إلى ماسبق- بإمكان التحكم فى معدل نمو الفطر rate of growth مع ثبات تركيز المادة المستخدمة فى إنمائه substrate concentration؛ وبذلك يمكن أن ينمو الفطر المستخدم تحت ظروف ثابتة constant conditions؛ وهذا يعمل على زيادة كتلة الفطر الحيوية fungal biomass دون زيادة فى بيئة النمو.

وتظهر أهمية هذه التقنية؛ وذلك عند الاعتماد على التخمير الصناعى فى إنتاج كتلة حيوية للفطر تستخدم كغذاء للإنسان؛ مثال ذلك إنتاج خميرة الخباز baker's yeast، وأيضاً إنتاج البروتين الفطرى mycoprotein. وعلى الرغم من أهمية هذه التقنية، إلا أن هناك تقنيات أخرى تستخدم فى إنتاج مواد ذات أهمية صناعية كبرى؛ مثل إنتاج حمض الستريك بأسلوب المزارع العميقة أو الضحلة.

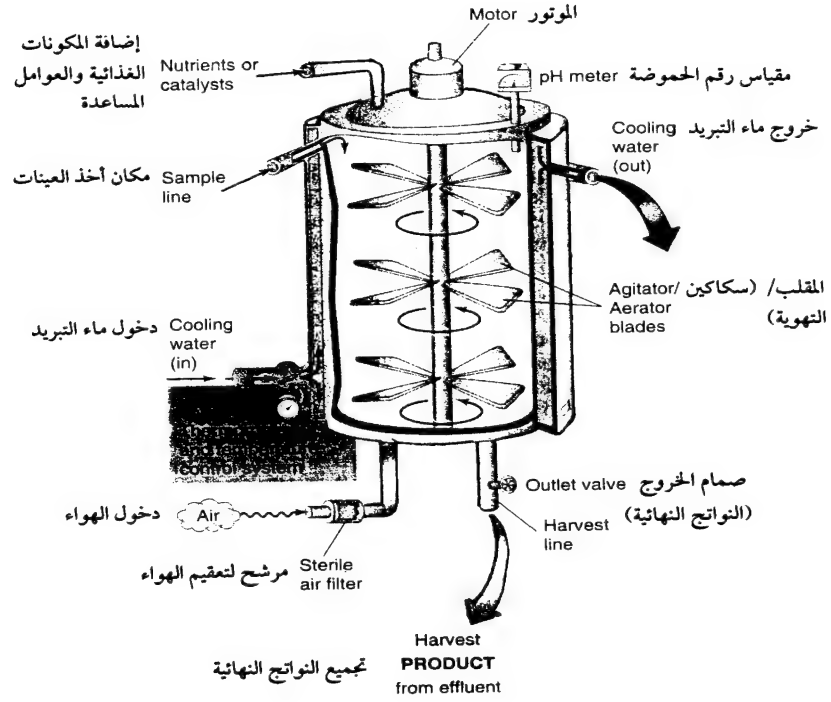
أ- المفاعل ذو الخزان القلاب The stirred tank reactor :

هذا النوع من أوعية التخمير عبارة عن وعاء أسطوانى الشكل، يحتوى على مقلب قطره نحو ١٠/١ قطر الوعاء؛ حيث يعمل المقلب على تسهيل عملية الخلط والتقليب دون حدوث دوامات. ويتم التهوية عن طريق دفع هواء معقم يدخل من قاع الوعاء عبر أنبوب ينتهى طرفه بما يشبه الرشاش، أو قد يكون مزوداً بحلقة ذات فتحات. وقد يزود المقلب بعدة سكاكين تساعد على زيادة كفاءة التقليب.

وبصفة عامة، فإن تصميم المقلب ونظم التقليب من العوامل المحددة لمعدل دفع الأكسوجين إلى محلول التخمير. وعلى الرغم من أن هذا النوع من أوعية التخمير هى الأكثر انتشاراً حتى الآن فى معظم المصانع المعتمدة على التخميرات الفطرية لإنتاج مواد ذات أهمية صناعية، إلا أن تركيب مثل هذه المقلبات والتعامل معها يحتاج إلى عمالة فنية مدربة.

ب - وعاء التخمير البرجي Tower fermentor :

يتكون هذا النوع من الأوعية من وعاء طويل يبلغ طوله نحو ستة أضعاف قطره؛ حيث يتم دفع غاز الأكسوجين إليه من القاع؛ وذلك على صورة فقاعات وليس بالتقليب، كما هى الحال فى المفاعل ذى الخزان القلاب.



شكل (٢٢): التركيب العام لوعاء التخمر ذي الخزان القلاب، المزود بسكاكين التقليل ووحدات التهوية والتحكم في ظروف التنمية

ويتميز وعاء التنمية البرجي بإمكانية استخدام معدلات تنمية منخفضة مع قلة تكاليف التركيب والتشغيل. وعادةً ما يستخدم وعاء التنمية البرجي في إنتاج حمض الستريك؛ عن طريق الفطر الهيفي *Aspergillus niger*، وفطر الخميرة *Candida guilliermondii*.

ويحتوى المفاعل الحيوى الهوائى المغلق على أنبوية خارجية أو داخلية مزودة بمقلب لتحسين عمليات التقليب فى وعاء التنمية؛ وذلك بزيادة معدل تدفق البيئة فى الوعاء. ويعتبر مصدر الطاقة اللازمة للتقليب هو اختلاف كثافة البيئة الداخلة إلى وعاء التنمية والبيئة الخارجة منه؛ بما تحمله من مواد رغوية طافية.

ج - التخمير السطحي Shallow fermentation :

تستخدم فى هذا النوع من التخمير صوان يتم التحكم فى درجة حرارتها عن طريق تحضينها فى غرف معقمة ذات درجات حرارة ثابتة. ويعتبر هذا النوع من التخميرات من نوع التنمية على دفعات batch culture.

وتصنع الصوانى-المستخدمة فى هذا النوع من التخمير- من الألومنيوم العالى النقاء أو من الصلب غير القابل للصدأ. وتعتبر هذه الطريقة من الطرق الشائع استخدامها فى إنتاج حمض الستريك؛ وذلك باستخدام مولاس بنجر السكر كمصدر كربوني، بينما يتم خفض رقم حموضة البيئة باستخدام حمض الكبريتيك؛ حيث يتراوح رقم الحموضة بين ٢,٥ و ٤,٠.

ويضاف اللقاح الفطرى - البادىء - فى صورة معلق من جراثيم الفطر المستخدم فى التخمير، بينما يدفع هواء رطب معقم على سطح الصوانى خلال تحضينها فى الغرفة المعقمة على حرارة ٢٣٠°.

وتنبت جراثيم الفطر خلال ساعات قليلة، بينما يستكمل الفطر نموه الميسليومى بعد عدة أيام؛ حيث تشاهد نموات هيفية بيضاء اللون تغطى سطح البيئة فى صوانى التنمية؛ منتجة حمض الستريك فى البيئة.

ويتم الحصول على الكتلة الحيوية للفطر (النموات الميسليومية)؛ وهى تمثل مخلفاً ناتجاً من هذه الصناعة، بينما يعتبر حمض الستريك هو المنتج الأساسى. وبعد تفريغ الصوانى من محتوياتها يتم غسلها وملؤها بالبيئة الغذائية، ثم تعقم الصوانى بما تحتويه من بيئة، ويعاد تلقيحها بمعلق جراثيم الفطر (البادىء).

وعلى الرغم من أن هذه الطريقة من الطرق القديمة الشائع استخدامها في إنتاج حمض الستريك، كما أنها ذات كفاءة منخفضة في إنتاجها، إلا أنها مازالت مستخدمة حتى الآن وخاصة في المصانع الصغيرة المنتجة لهذا الحمض.

٢- تخمر المواد الصلبة Solid substrate fermentation

تعتمد هذه الطريقة في تنمية الفطر على مواد عضوية صلبة في غياب الماء أو وجود كمية قليلة منه. ومن أمثلة المواد المستخدمة في مثل هذه التخمرات: حبوب النجيليات، وبذور البقوليات، والمخلفات النباتية الليجنوسيليلوزية. ومعظم هذه المواد عبارة عن مركبات معقدة غير ذائبة في الماء.

وتتبع هذه التقنية من التخمرات في عديد من دول شرق آسيا؛ وذلك لإنتاج بعض الأغذية الشعبية المتخمرة هناك؛ مثل التمبي *tempeh*، كما تستخدم نفس التقنية في زراعة الأنواع التجارية من فطريات عيش الغراب.

وتتميز الفطريات المستخدمة في هذه التقنية بمقاومتها للجفاف؛ حيث يمكنها النمو في بيئات غذائية ذات نشاط مائي منخفض (A_w) low water activity . وحيث إن معظم هذه التخمرات التي تتم على المواد الصلبة هوائية، فإنه يجب أن تسمح الظروف -التي تتم فيها مثل هذه التخمرات- بتبادل الغازات؛ حيث يتم التخلص من ثاني أكسيد الكربون المتصاعد، ويحل محله مزيد من الأكسجين اللازم للتنفس.

وحيث إن مراحل التخمر للمواد الصلبة هي في مجملها عملية إنتاج كومبوست *compost*، فإنه عادةً ما ترتفع درجة حرارة المواد المتخمرة ذاتياً؛ حيث يمثل ارتفاع الحرارة مشكلةً يجب التخلص منها أو تجنبها. ويمكن منع ارتفاع حرارة المواد المتخمرة عن طريق التهوية بدفع تيار من الهواء.

وتتميز تقنية تخمير المواد الصلبة بتكاليفها المنخفضة، وانخفاض الطاقة اللازمة

للتشغيل، وقلة المياه المتبقية بعد إجراء عملية التخمير، مع غياب الطبقة الرغوية التي تطفو-عادةً- على سطح البيئات السائلة المتخمرة؛ مسببةً مشكلاتٍ في نظم تخمر البيئات السائلة.

ويمكن تنفيذ هذا النوع من تخمر المواد الصلبة على أساس الصواني الضحلة (غير العميقة) *shallow trays*؛ حيث يُدفع هواء رطب من خلال المواد المتخمرة، أو من خلال أسطواناتٍ دوارةٍ *rotating drums*. ولقد طور بعض الباحثين مثل (Considine et al., 1989) نظاماً بسيطاً معتدل التكاليف؛ وذلك باستخدام أكياسٍ من البلاستيك.

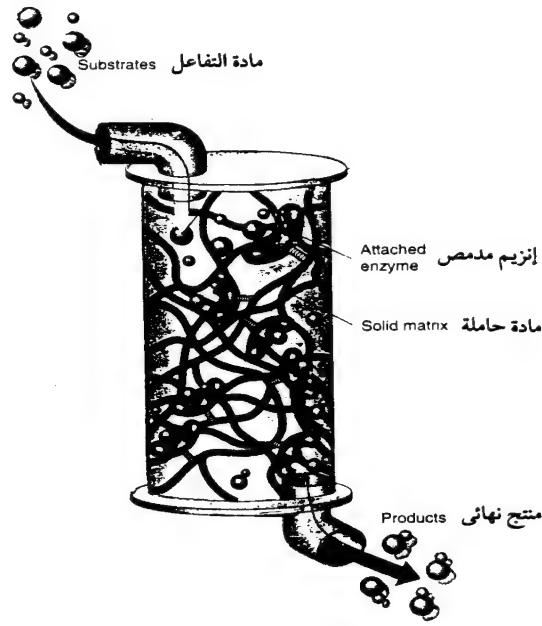
ويتم في هذا النظام حقن لباب البنجر وردة القمح وتبن الشعير بالفطر *Penicillium capsulatum* بعد تعبئتها في الأكياس البلاستيك التي سبقت الإشارة إليها، ثم يُدفع هواء رطب خلال تلك الأكياس. وينتج عن ذلك إنزيمات فطرية خارجية وكتلة حيوية للفطر دون تكاليف باهظة.

٣- نظام الخلايا الساكنة والمفاعل الغشائي

Immobilised cells and film reactor systems

طور استخدام تقنية الإنزيمات الساكنة *immobilised enzymes* منذ بداية سبعينيات هذا القرن؛ حيث يتم تثبيت الإنزيم على سطح مادة ما، أو يرتبط بإحدى المواد، ثم تمرر عليه مادة التفاعل دون أن يتأثر الإنزيم؛ مستمراً في نشاطه لفتراتٍ طويلة.

وفي الوقت نفسه، تم تطوير هذه التقنية في تثبيت خلايا الكائنات الحية الدقيقة، وكذلك خلايا النبات والحيوان. إلا أن هناك قليلاً من التطبيقات الصناعية لخلايا الفطر الساكنة. ويتميز نظام الخلايا الساكنة بأنه لا يحتاج إلى عمليات تنقية وإعداد للإنزيمات، كما أنه يعمل في وجود تركيز عالٍ من الخلايا، ومعدل مرور عالٍ لمواد التفاعل، دون أن يؤثر ذلك على إزالة خلايا الفطر من هذا النظام.



شكل (٢٣): مفاعل الإنزيمات الساكنة؛ حيث يدمص الإنزيم على مادة حاملة (مثل الألياف السليلوزية).

وهناك عديد من الطرق المستخدمة لتسكين خلايا الفطر؛ منها الادمصاص **ad-sorption**، والاحتجاز **entrapment**، بالإضافة إلى طريقة الالتصاق الطبيعي **natural adhesion**.

ولقد استخدمت الطرق السابقة في تسكين الإنزيمات الفطرية، ثم طُورت بعد ذلك لتسكين خلايا الفطر نفسها المنتجة لهذه الإنزيمات.

وتعتمد طريقة الادمصاص على ربط الخلايا مباشرةً على مواد حاملة غير قابلة للذوبان في الماء؛ وذلك بروابط ألكتروليتية، وترتبط سطح الخلايا بالمادة الحاملة؛ بحيث تظل خلايا الفطر حيةً ونشطةً.

ويمكن تسكين خلايا الخميرة والفطريات الهيفية بالادمصاص على مبادلات أيونية ion exchange resins، أو على قطع الزجاج fritted glass أو على خزف الزركونيم zirconium ceramic.

ومن الطرق الشائعة الاستخدام في هذا المجال، احتجاز خلايا الفطر داخل مادة هلامية خاملة؛ مثل مادة بولي أكريلاميد polyacrylamide؛ أو مادة الجينات الكالسيوم calcium alginate.

ومن أفضل الأمثلة لاستخدام مادة بولي أكريلاميد لتسكين خلايا الفطر على مستوى الإنتاج التجاري، إضافة مجاميع الهيدروكسيل للسترويدات-steroid hydrox-ylation process باستخدام الفطر *Curvularia lunata* المسكن، وكذلك خلايا بكتيريا *Corynebacterium simplex* المسكنة؛ حيث تستخدم هذه التقنية في تحويل مادة كورتيكوسولون cortexolone إلى مادة بريدنيسون prednisone عبر مادة الكورتيزول cortisol.

ويمكن أيضاً احتجاز جراثيم الفطريات - كما هي الحال في الفطر *Curvularia lunata* - بدلاً من احتجاز الهيفات، وفي هذه الحالة يفضل استخدام مادة الألجينات alginate لتسكين جراثيم هذا الفطر؛ حيث إن هذه المادة تكون أكثر فاعليةً من استخدام مادة بولي أكريلاميد.

وتنتج الكريات الصغيرة pellets من مادة الألجينات المسكن بها جراثيم الفطر السابق؛ وذلك على نطاق تجاري واسع؛ حيث تستعمل في تعبئة المفاعلات الحيوية bed bioreactors.

ويمكن إنتاج حمض الستريك وحمض الجلوكونيك باستعمال الفطر *Aspergillus niger* المسكن على مادة ألجينات الكالسيوم *calcium alginate*. وتزداد معدلات إنتاج حمض الستريك باستعمال تقنية الفطر المسكن إلى خمسة أضعاف؛ بالمقارنة بإنتاجية الفطر النامي في نظام التنمية على دفعات *batch culture system*.

ولإنتاج حمض الجلوكونيك *gluconic acid*، يستعمل مفاعل مجهز برزاز *trickle bed reactor* يحتوى على فطر *A.niger* مسكن في مادة ألجينات الكالسيوم؛ حيث يتم دفع محلول مادة التفاعل مع الهواء - أو الأكسوجين - إلى سطح المفاعل على صورة رزاز، مع دورانها المستمر عبر عمود المفاعل *reactor bed*. ويتم الحصول على معدل تحوّل حوالى ٩٣٪ بعد ٢٤ ساعة باستخدام الأكسوجين، و ٤٤٪ فى حالة استخدام الهواء.

٤- التسكين بالالتصاق والغشاء السطحي النمو :

Immobilisation by adherence and surface film growth:

تميل معظم الفطريات - بصفة عامة - إلى الالتصاق بالأسطح الداخلية؛ حيث يمكن ملاحظة هذه الظاهرة للنمو الفطري عند إنماء الفطر فى المعمل، وينظر إلى هذه الظاهرة كصفة غير مرغوبة أكثر من كونها ذات تطبيقات عملية.

وتظهر ظاهرة التصاق النموات الفطرية للأسطح الداخلية؛ وذلك عند إنماء الفطريات على بيئة سائلة فى دوارق مهتزة، أو مزارع ساكنة على دفعات *stationary batch culture*، كما تلاحظ ظاهرة التصاق ميسليوم الفطر على الأسطح كإحدى المشاكل فى التخمرات الصناعية؛ حيث يميل الفطر إلى الالتصاق بأنابيب التهوية مسبباً انسدادها، وقد يلتصق بالمقلبات والمراوح؛ مما يؤدي إلى خفض كفاءة عملية التخمر.

ويمكن اختبار قدرة الفطريات الهيفية على الالتصاق بالأسطح؛ وذلك بوضع قطعة من الجبل أو خيط من النايلون فى دورق مهتز يحتوى على بيئة سائلة ينمو فيها أحد

الفطريات، وبعد فترة قصيرة من التحضين نلاحظ نمو الفطر ملتصقاً على الجبل أو الخيط؛ مكوناً حبلاً طويلاً من ميسليوم الفطر.

ولقد استغلت هذه الظاهرة -التي تعتمد على قدرة الفطريات الهيفية على الالتصاق بالحبال- فى استخدامات تطبيقية مفيدة؛ وذلك فيما يسمى الخمير الجبلى -cord fer-mentor. ويتم ذلك عن طريق وضع مجموعة من الحبال سكن عليها الفطر؛ وذلك بصورة أفقية فى أنبوب التخمير fermentation tube؛ بطريقة تسمح لها بالالتفاف حول نفسها داخل بيئة النمو. ويراعى أن يصل حجم الأحبال الفطرية إلى منتصف الأنبوبة؛ مما يسمح لهذه الحبال بالمرور خلال البيئة السائلة؛ فتتبلل بها، ثم تتعرض للهواء بعد ذلك، وتستمر الحال هكذا بالتبادل؛ نتيجة دوران الأنبوبة المستمر.

وقد يُتبع نظام آخر فى هذا الشأن؛ وذلك بوضع الحبال المغطاة بالنموات الفطرية fungus-covered cords فى نظام رأسي ثابت؛ بحيث يسمح للبيئة الغذائية المعرضة للأكسوجين oxygenated medium بالتدفق من أعلى إلى أسفل فى وعاء التخمير.

وهناك تقنيات أخرى، يسمح خلالها للفطريات بالالتصاق على اسطوانات بصورة طبيعية؛ مكونة مايسمى «المفاعل الأسطوانى الدوار rotating disc reactor».

ويمكن -فى هذه الحالة- أن تكون دعائم الأسطوانة مصنوعة من مواد مختلفة؛ مثل الأسبستوس asbestos، أو البلاستيك، أو الألومنيوم، أو الزجاج.

ولقد استخدم هذا النوع من المفاعلات فى دراسة قدرة الفطر *A.niger* على إنتاج الأحماض العضوية. كما يمكن استعمال المفاعلات الأسطوانية الدوارة فى معالجة المخلفات؛ مثل تلك الناتجة من صناعة النشا. وأيضاً تلعب الأغشية الفطرية الطبيعية naturally developing fungal films دوراً هاماً فى نظم معالجة مياه الصرف الصحى.

ومن ناحية أخرى، يمكن تسكين الفطريات على جزيئات صغيرة مصنوعة من مادة خاملة، ثم إضافتها إلى مفاعل ذى خزانٍ قلابٍ stirred tank، أو إلى مفاعل الطبقة الهامة fluidised bed reactor.

وتستخدم فى مثل هذه الحالة كرات صغيرة مصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ، يصل قطر الكرة الواحدة إلى ستة ملليمترات، أو تستخدم قطع من الإسفنج الصناعى، أو كرات من الدياتوميـت *Diatomite* (طحلب الدياتوم *celite*) التى تتميز بوجود ثقبٍ داخلية واسعةٍ تلتصق بها الجراثيم الفطرية عن طريق الخاصة الشعرية. وتستخدم هذه التقنية فى تسكين جراثيم الفطر *Penicillium chrysogenum* لإنتاج المضاد الحيوى «بنسلين».

٥. التحولات الحيوية باستخدام الجراثيم الفطرية:

تعامل جراثيم الفطريات -بصفة عامة- على أنها تراكيب ساكنة، إلا أنها تحتوى على عديدٍ من الإنزيمات التى يمكن الاستفادة منها من الناحية الاقتصادية.

فعلى سبيل المثال، يمكن استعمال الجراثيم الفطرية فى تغيير التركيب الكيميائى للستيرويدات *steroids*، وإنتاج المضادات الحيوية، والمواد المكسبة للنكهة (المنكهات) *flavonoids*. كما تستخدم هذه الجراثيم فى التحول الكيميائى لمدى واسع من المركبات؛ بما فيها المركبات الهيدروكربونية *hydrocarbons* والقلويدات *alkaloids*.

ويتم استخدام الجراثيم الفطرية فى مثل هذه التقنيات الحيوية على مرحلتين؛ الأولى: إنتاج الجراثيم، وجمعها، وغسلها، ثم تخضين هذه الجراثيم مع مادة التفاعل *substrate*. وعادة ما يتم الإنتاج التجارى لجراثيم الفطريات باتباع طريقة إنماء الفطر فى صوانٍ على ردة القمح الرطبة المعقمة.

ويتبع فى هذه الطريقة استخدام صوانٍ من الألومنيوم، توضع على حوامل متحركة، يحتوى كل حواملٍ على ٢٤ صينية. وتملأ هذه الصوانى الألومنيوم بالردة المعقمة بعد أن تبرد وتلقح بجراثيم الفطر المرغوب. وترص هذه الصوانى على الحامل الذى يشغل نحو نصف مترٍ مربعٍ من سطح الأرض.

وتنقل الردة التى ينمو عليها الفطر -بعد فترة تخضينٍ كافيةٍ- إلى خزانٍ يحتوى

على مادة مطهرة، ثم تقلب فيه جيداً، وتصفى، ويؤخذ المحلول المحتوى على معلق الجراثيم، ويوضع فى جهاز الطرد المركزى. وبعد ذلك يتم فصل الجراثيم بالترشيح خلال صوف زجاجى، وتجفف، ثم تحفظ مجمدة لحين الحاجة إليها. وتبلغ القدرة الإنتاجية لكل صينية نحو 7×10^{12} جرثومة خلال أيام قليلة.

وتتميز الجراثيم الفطرية بثباتها، وسهولة نقلها، واستخدامها كمادة حيوية مساعدة. كما أن معلق الجراثيم يكون متجانساً؛ مما يعطى معدل تحول ثابت للمادة المتفاعلة، وأيضاً يعطى كمية كبيرة من المواد الناتجة من هذا التفاعل دون أية نواتج جانبية غير مرغوبة.

وبالإضافة إلى ماسبق، فإن البيئة اللازمة لإنبات هذه الجراثيم ونمو هيفاتها تكون عادة بسيطة التركيب، وتتكون -عادة- من محلول منظم، مع إضافة سكر الجلوكوز أو بدونه، ولا يضاف مصدر نيتروجينى إلى البيئة؛ حتى لا يساعد ذلك على التلوث البكتيرى.

ومن الممكن أيضاً حجز جراثيم الفطريات فى إحدى الدعامات؛ حيث تستخدم مثل هذه التقنية فى إنتاج كثير من المواد الهامة صناعياً؛ فعلى سبيل المثال تستخدم جراثيم الفطر *Fusarium moniliforme* فى تحويل phenoxymethylpencillin إلى حمض 6-aminopenicillic acid، وجراثيم الفطر *Aspergillus wentii* فى تحليل النشا وتحويله إلى جلوكوز، وأيضاً تستخدم جراثيم الفطر *Penicillium roquefortii* فى تحويل الأحماض الدهنية إلى ميثيل كيتونات methylketones، وجراثيم الفطر *Aspergillus ochraceus* فى مختلف التحولات الستيرويدية-steroid transformations.

ثالثاً: طرق التنمية والإنتاج:

تهتم الشركات العاملة في مجال استخدام الفطريات في التخمرات الصناعية بإجراء أبحاث داخل معامل خاصة بها؛ لتطوير التقنيات المتبعة، والبحث عن تقنيات جديدة، هذا بجانب قسم الإنتاج الذي يتبع أحدث التقنيات لتغطية احتياجات السوق من المواد الناتجة من التخمرات الفطرية.

ويستخدم -عادةً- داخل معامل هذه الشركات أوعية تخمر صغيرة الحجم، يتم فيها إجراء الاختبارات العملية على نطاق محدود؛ وذلك بغرض اختبار إنتاج منتجات جديدة، أو تطوير مواد خام تستعمل لأول مرة، أو إحدى سلالات الفطر الناتجة من إحداث طفرات، أو إعادة هندستها وراثياً، وكذلك محاولة إيجاد حلول لبعض المشاكل التي تواجه الإنتاج؛ وذلك بغرض رفع مستوى المنتج النهائي كما ونوعاً.

وفي مثل هذه الحالات، يتراوح حجم وعاء التخمر المعملی بين لتر واحد وخمسة لترات، وقد يتراوح بين عشرين لتراً وخمسين لتراً، أو بين مائة لتر وألف لتر؛ حيث يتوقف ذلك على نوع المادة المتخمرة، والغرض من الاختبار، وغير ذلك من عوامل عديدة تؤثر في مثل هذه الاختبارات؛ سواء أكانت أولية، أم تأكيدية.

وعادة ما تستخدم أوعية تخمر سعة ثلاثة لترات مصنوعة من الزجاج؛ وهي أوعية سهل نقلها وغسلها وتعقيمها في حجرات الغسيل الجانبية الملحقة بالمعمل، بينما هناك أوعية تخمر ثابتة، لا تنقل من مكان إلى آخر؛ لذلك يتم غسلها وتعقيمها وهي في مكانها داخل المعمل. ويتراوح حجم أوعية التخمر

الثابتة بين ٥ لتراتٍ و ٥٠ لتراً؛ حيث تصنع -عادة- من الزجاج أو الصلب غير القابل للصدأ.

وفي أعقاب الحرب العالمية الثانية، حدثت طفرة في صناعة أوعية التخمير، وتطورت هذه التقنية تطوراً كبيراً؛ حيث كانت التقنية القديمة السائدة هي استعمال الدوارق المهتزة shake flasks، أو الزجاجات ذات القاع المسطح (المفلطح) flat bed bottles، ثم تطورت هذه الأوعية الزجاجية إلى الأوعية ذات المقلب، واستمر التطوير حتى تم إنتاج الأوعية المصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ، وهذه الأوعية يصل حجمها إلى نحو ١٠٠ متر مكعب أو أكثر.

وعلى الرغم من ذلك التطوير في تقنية التخميرات الفطرية، فإنه مازالت طريقة الدوارق الزجاجية المهتزة مستخدمة في معامل هذه الشركات؛ وذلك لإنتاج مادة اللقاح الأساسي (البادىء) للفطر المستخدم في التخمير. إلا أن هذه الطريقة لا تخلو من العيوب، ولعل أهم هذه العيوب هو انخفاض معدل انتقال الأكسجين low oxygen transfer rate.

وحيث إن معدل ذوبان الأكسجين في المحاليل المائية يقدر بحوالى تسعة أجزاء في المليون عند حرارة ٢٥°م؛ وهو معدل قليل للغاية؛ فإن ذلك يؤثر على معامل انتقاله عبر محاليل التنمية؛ حتى يصل إلى الفطر النامي فيها؛ فعلى سبيل المثال نجد أن معامل انتقال الأكسجين mass transfer coefficient ($k_L a$) يختلف من وعاء تخمر إلى آخر؛ ففى أنبوبة الاختبار يساوى هذا المعامل ٢٠ لتراً/ساعة، بينما يصل إلى ٥٠ لتراً/ساعة في الزجاجات ذات القاع المفلطح، وإلى ٥٠٠ لتراً/ساعة في الدوارق المهتزة، أما في أوعية التخمير الصغيرة، فإن معامل انتقال الأكسجين يصل إلى نحو ٣٠٠٠-٤٠٠٠ لتراً/ساعة.

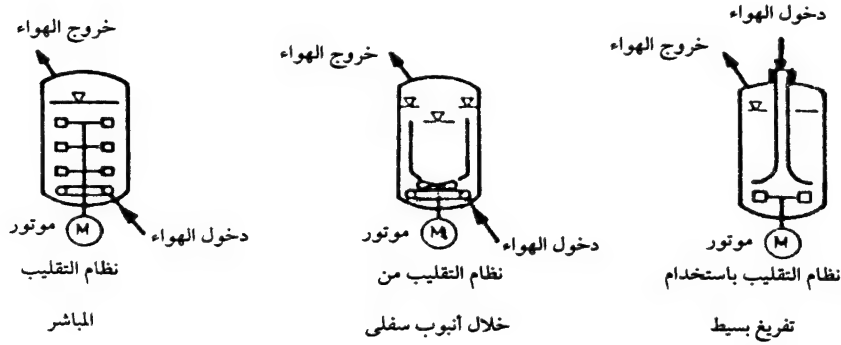
وتبعاً لما سبق، فإنه يجب مراعاة نظام توزيع الغازات (الهواء - الأكسجين) عند

تصميم أوعية التخمر؛ حيث إنها تلعب دوراً هاماً في معامل انتقال الأكسجين؛ الذى يؤثر على المنتج النهائى للتخمرات الصناعية.

١- الأنظمة المتبعة فى توزيع الغازات:

أ- توزيع الغاز بالتقليب gas distribution by stirring

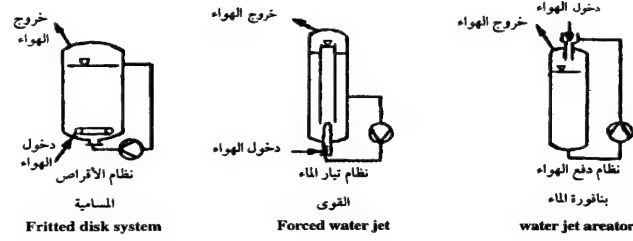
يتميز هذا النظام بسهولة إجرائه، ولذا فهو شائع الانتشار فى المصانع التى تعتمد على التخمرات الفطرية فى منتجاتها. ويتم توزيع الهواء بطرق متنوعة؛ ومثال ذلك: تقليب الهواء مباشرة، أو عن طريق دخول الهواء خلال أنبوب سفلى؛ حيث يستخدم ذلك فى الإنتاج التجارى. وفى النوع الثالث يتم دخول الهواء خلال أنبوب علوى، ماراً إلى سطح أسلحة المقلب stirrer blades.



شكل (٢٤): الأنظمة المتبعة فى توزيع الغازات داخل أوعية التخمر عن طريق التقليب.

ب - توزيع الغاز بالطملمبات gas distribution through pumps

ويتم فى هذا النظام دفع السوائل ونقلها من خلال مضخات، ثم يوزع الهواء عن طريق رشاشات أو مضخات دفع الماء بطريقة تشبه النافورة water jet pump.

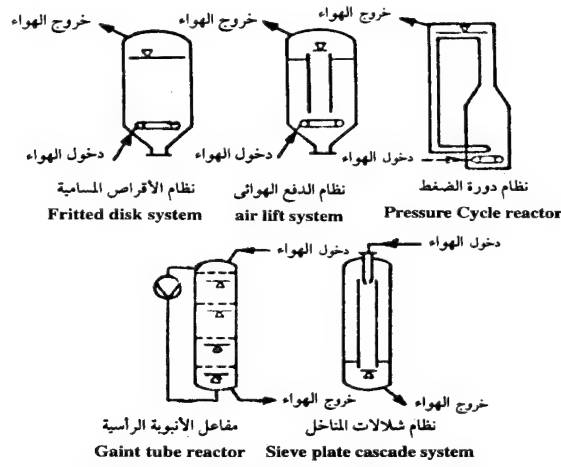


شكل (٢٥) : نظم توزيع الغازات داخل أوعية التخمير عن طريق الظلمبات.

جـ - توزيع الغاز باستخدام الهواء المضغوط :

gas distribution by means of pressurized air

يتميز هذا النظام بعدم وجود أجزاء متحركة في المنطقة المعقمة؛ حيث ينتشر هذا النوع في أوعية التخمير المستخدمة في الإنتاج التجارى.

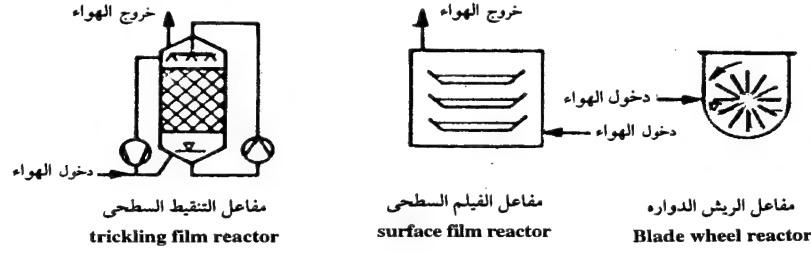


شكل (٢٦) : نظم توزيع الغازات داخل أوعية التخمير عن طريق الهواء المضغوط

د - توزيع الغاز بطريقة مستمرة continuous gas phase :

فى هذا النظام يتم دوران الهواء حول طبقة رقيقة (فيلم) من الكائنات الحية الدقيقة النامية على مادة حاملة. وقد تكون هذه الطبقة الرقيقة عبارة عن طبقة من النيمات الطافية على سطح البيئة الغذائية السائلة المستخدمة فى التخمر.

وفى بعض الأحيان تكون البيئة المستخدمة صلبة أو نصف صلبة. وفى بعض الأنظمة المستخدمة فى توزيع الغاز بطريقة مستمرة تكون ريش التقلب متحركة، أو تكون عبارة عن أسطوانة متحركة داخل البيئة الغذائية. ويعتبر هذا النظام من أفضل الأنظمة المستخدمة فى التخمرات الصناعية الفطرية.



شكل (٢٧) : نظم توزيع الغازات داخل أوعية التخمر بالطريقة المستمرة.

٢ - الصفات النموذجية لوعاء التخمر :

يلعب حجم وعاء التخمر المستخدم فى الصناعة دوراً كبيراً فى الإنتاج؛ فيجب أن يكون مناسباً وكافياً لحجم البيئة المستعملة فى إنماء الفطر المناسب لهذا التخمر الصناعى، وللغازات الذائبة فى محلول البيئة؛ التى تتصاعد خلال عملية التخمر وتملأ الفراغ العلوى لوعاء التخمر، وكذلك للمواد الرغوية التى تطفو على سطح البيئة.

وفى الأوعية التى تعتمد على التقلب، يمثل حجم البيئة المستخدمة فى إنماء الفطر working volume حوالى ٨٠٪ من الحجم الكلى لوعاء التخمر، وأيضاً النسبة بين ارتفاع وعاء التخمر وقطره تتراوح بين ١:٢ و ١:٣,٥.

ويفضل صناعة أوعية التخمير العملاقة من الصلب غير القابل للصدأ، كما يجب مراعاة عدم وجود ثانياً في قاع الوعاء؛ حتى لا تتراكم فيها كمية من البيئة الغذائية تبقى ساكنة دون تحريك، والتي يطلق عليها اسم المناطق الميتة *dead spaces*. ومن العيوب الناتجة عن وجود مثل هذه المناطق صعوبة تنظيفها وتعقيمها بعد ذلك.

أما بالنسبة إلى تعقيم وعاء التخمير، فإنه يجب أن يكون تصميمه قد روعي فيه سهولة تعقيمه وتشغيله تحت ظروف التعقيم؛ لذلك يصنع وعاء التخمير - عادةً - من الزجاج أو الصلب غير القابل للصدأ؛ حيث إن هذه المواد تتميز بتحملها للأحماض المستخدمة في تنظيف وتطهير وعاء التخمير، والضغط العالي أثناء عملية التعقيم.

ومن الشروط الأخرى الواجب توافرها في وعاء التخمير أن تكون جميع الوصلات والصمامات الداخلية والخارجية مصنوعة من مواد تتحمل التعقيم بالحرارة، ولا تتأثر بفعل المواد الكيميائية المستخدمة في البيئة الغذائية، أو تلك الناتجة من التخميرات الفطرية.

كما يجب تزويد وعاء التخمير بفتحات دخول الهواء من خلال مرشحات تمنع دخول الميكروبات؛ مما يسمح بالتهوية عن طريق دفع هواء معقم بالترشيح. ويجب تزويد فتحات دخول الهواء بصمام يمنع اندفاع البيئة الغذائية من وعاء التخمير إلى مرشح الهواء؛ وبذلك تتجنب تلوث المرشح بالبيئة الغذائية نتيجة الاندفاع العكسي.

ويراعى أن تكون فتحة خروج الهواء مصممة بطريقة تمنع التلوث الميكروبي من الهواء الخارجى، وكذلك الحال في الفتحات الأخرى الموجودة في وعاء التخمير؛ مثل فتحات إضافة مكونات البيئة الغذائية المستخدمة في تنمية الفطر، وإضافة المواد المانعة لتكوين المواد الرغوية، ومواد ضبط رقم الحموضة، وغيرها من مواد تضاف أثناء عملية التخمير، وكذلك فتحة أخذ العينات الدورية لمتابعة مراحل التخمير.

ويتصل وعاء التخمير - عادةً - بعدد من نظم القياس، والتي يمكن إيجازها فيما يلي:

١- قياس الحرارة :

يستخدم جهاز للقياس يعتمد على التغير في المقاومة الكهربائية؛ تبعاً لدرجات الحرارة المختلفة.

٢- قياس الضغط:

يستخدم في ذلك أنبوب بورديو، أو جهاز يعتمد في حساسيته على الضغط الغشائي. ويتم ذلك عن طريق قياس حركة الغشاء التي تتأثر بتغير الضغط. ويمكن استخدام أية أجهزة إلكترونية أخرى.

٣- قياس محتوى وعاء التخمر:

لمعرفة ما يحتويه وعاء التخمر من بيئة غذائية، يتم قياس وزن البيئة أو معرفة حجمها باستعمال الموازين أو المكاييل المألوفة (كيلوجرام - لتر).

٤- قياس كمية الرغوى:

يستخدم -عادةً- جهاز حساس لقياس الحجم الموجود فوق سطح البيئة من المواد الرغوية، وذلك للتحكم في وجودها، بإضافة مواد مانعة للرغوى.

٥- سرعة محور الدوران :

يستخدم لذلك مقياس السرعة (تاكوميتر Tachometer) يعتمد على قياس توليد الكهرباء الناتجة من القوة المغناطيسية أو الضوئية.

٦- معدل دخول الغاز:

ويُقاس بعدد يحسب عدد اللفات (روتاميتر Rotameter).

٧- معدل تدفق البيئة السائلة:

ويتم قياسه عن طريق استخدام محول طاقة كهربائي يعتمد على قياس معدل التدفق في مجال مغناطيسي أو كهربائي.

٨- قياس رقم الحموضة وتركيز غاز الأكسوجين الذائب وتركيز غاز ثاني أكسيد الكربون الذائب: يتم ذلك من خلال استخدام إلكترونيات خاصة.

٣- مراحل التخميرات الفطرية:

يمكن تقسيم عمليات التخمير -التي ينتج عنها النواتج الأولية أو الثانوية للتمثيل الغذائي للفطريات- إلى أربع مراحل؛ هي:

١- مرحلة حفظ السلالة الفطرية:

يقصد بهذه المرحلة الاحتفاظ بالسلالة الفطرية المستخدمة في الصناعة لفترة طويلة؛ وذلك ليس فقط بغرض المحافظة على حيويتها، ولكن أيضاً بغرض الاحتفاظ بقدرتها الحيوية على إنتاج المواد الهامة المستخدمة في النواحي الصناعية.

فعلى سبيل المثال، تفقد كثير من السلالات الفطرية العالية الإنتاج جزءاً من قدرتها الإنتاجية خلال عمليات النقل المتتالي؛ نتيجة حدوث طفرات ذاتية؛ لذلك يجب الاحتفاظ بسلالة الفطر لأطول فترة ممكنة دون الحاجة إلى تجديدها وإعادة تنميتها على بيئة غذائية لأكثر من مرة واحدة كل سنتين أو أكثر على الأقل، مع اختبار قدرة هذه السلالة الفطرية على الإنتاج. ويطلق على هذه السلالة اسم «السلالة الأساسية Master strain».

وتستخدم السلالة الأساسية للفطر في إعداد سلالة نشطة يطلق عليها اسم «سلالة الإنتاج Working strain». وعادة ما يتم اختبار سلالة الإنتاج بصفة دورية للتعرف على درجة نقائها، ومدى حيويتها، وكفاءتها الإنتاجية.

وهناك طرق متنوعة تُتبع لحفظ السلالات الفطرية المستخدمة في الصناعة، ولكل طريقة مميزاتا وعيوبها؛ فعلى سبيل المثال تستخدم التربة المعقمة لحفظ ميسليوم وجراثيم أنواع مختلفة من الفطريات ولفترات طويلة تصل إلى عدة سنوات. وتتميز هذه الطريقة باحتياجها إلى إمكانيات بسيطة، مع تحقيقها نتائج جيدة، وخاصة مع

سلالات الفطريات غير المتجرّمة. ومن الممكن استخدام رملي معقم، أو سيلكاجيل، أو أقراص من الجيلاتين، أو حبيبات الخزف كبديل للتربة المعقمة.

ويمكن استخدام الجلوسول كمادة حماية للنموات الفطرية، ثم تحفظ السلالات الفطرية مجمدة على حرارة ٢٥٠° تحت الصفر. وعلى الرغم من عدم احتياج هذه الطريقة إلى مواد مكلفة، إلا أن الاحتفاظ بالسلالات الفطرية تحت هذه الدرجة البالغة الانخفاض من الحرارة يكون - عادةً - باهظ التكاليف. وتتميز السلالات الفطرية المحفوظة بهذه الطريقة باحتفاظها بصفاتها لسنوات طويلة؛ لذا فهي شائعة الاستخدام على النطاق الصناعي؛ نظراً لصلاحيتها للفطريات المتجرّمة وغير المتجرّمة.

ومن الوسائل الأخرى المتبعة في حفظ السلالات الفطرية طريقة التجفيد -lyophilization، إلا أن هذه الطريقة لاتصلح للفطريات غير المتجرّمة ولا للخمائر، كما أنها طريقة مكلفة تحتاج إلى أجهزة معقدة وخبرة عالية.

ب - مرحلة إعداد اللقاح (الباديه) Inoculum preparation

تعتبر هذه المرحلة من المراحل الهامة في الإنتاج؛ حيث يتم خلالها نقل سلالة الفطر من مرحلة الحفظ إلى مرحلة النمو. ويتم ذلك عن طريق نقل جزء من النمو الفطري من السلالة الأساسية Master strain إلى دورقٍ يحتوى على كمية قليلة من البيئة السائلة المعقمة، يتراوح حجمها بين ٥,٥ و ٥٠ مليلتراً و ٥٠ مليلترات.

ويحضن الدورق المحتوى على النمو الفطري في درجة حرارة مناسبة، وتراقب هذه النموات لمعرفة درجة نقائها، ومدى حيويتها ونشاطها. وبعد استكمال نمو الفطر تؤخذ أجزاء منه، وتنقل إلى سطح بيئة الآجار المائل في أنابيب الاختبار حتي يكون الفطر جراثيمه.

وتجمع - بعد ذلك - جراثيم الفطر، وتنقل إلى زجاجاتٍ تحتوى على بيئة الآجار المائل، ثم تحضن على درجة حرارة مناسبة، ثم يعاد جمعها في معلقٍ مائي، مع إضافة مادة ناشرة، مثل توين ٨٠ Tween80، أو تريتون Triton X100؛ بنسبة ١,٠ ٪. ويجب فحص هذا المعلق الجرثومي؛ للتأكد من نقائه وحيويته ونشاطه.

ج - مرحلة الإعداد الأولي لبيئة التخمير Fermentation preculture

يتم في هذه المرحلة إعداد كمية مناسبة من اللقاح الفطري مع بيئة التخمير؛ وذلك عن طريق إضافة جزء من النمو الفطري للسلالة المرغوبة في دوز زجاجي يحتوي على حوالي ٠,٥ لتر - لترين من البيئة الغذائية المستخدمة في التخمير الصناعي. ويتبع -عادة- تقليب البيئة لفترة، ثم إضافة محتوياتها إلى وعاء تخمير صغير. ويترك محلول البيئة الغذائية المحتوي على النموات الفطرية لفترة تخضين قصيرة؛ حيث يطلق عليه اسم المزرعة الأولية preculture، والتي تستخدم في تلقيح وعاء التخمير الكبير المستخدم في الإنتاج التجاري. وتستخدم -عادة- نسبة تلقيح تتراوح بين ٥٪ و ١٠٪ من معلق الوحدات الفطرية propagules (ميسليوم - خلايا - جراثيم -...)، يحتوي على ١-٥ × ١٠ جرثومة (وحدة فطرية) لكل مليلتر من البيئة الغذائية. ويجب التأكد من نقاء النموات الفطرية ونشاطها الحيوي في جميع مراحل الإنتاج.

د - مرحلة الإنتاج Production fermentation

يجب أن يكون القائمون على العمل في هذه المرحلة على دراية كاملة بإعداد البيئات الغذائية المستخدمة في التخمير الصناعي بواسطة الفطريات، وكيفية تعقيمها. كما يلزم أن تكون جميع مكونات البيئة على درجة عالية من الجودة، وثابتة التركيب، وخالية من الملوثات. كما يجب ضبط رقم حموضة البيئة قبل التعقيم وبعده مباشرة.

وتلزم دراسة تأثير عمليات التعقيم على جميع مكونات البيئة، ومعرفة نسبة الكربون إلى النيتروجين C/N ratio؛ حيث إن ذلك كله يلعب دوراً حاسماً في تكوين المنتج النهائي الناتج من عملية التخمير الصناعي، سواء أكان هذا المنتج من النواتج الأولية أم الثانوية لتمثيل الغذائي للفطر المستخدم.

كما يختلف حجم وعاء التخمر المستخدم فى الإنتاج تبعاً لاختلاف الناتج النهائى؛ فعلى سبيل المثال يتراوح حجم الوعاء بين متر مكعب واحد وعشرين متراً مكعباً فى حالة إنتاج الإنزيمات العلاجية والمواد المستخدمة فى البيولوجيا الجزيئية، بينما يصل حجم وعاء التخمر إلى ٤٠-٨٠ متراً مكعباً فى حالة إنتاج بعض المضادات الحيوية، وبعض الإنزيمات الغذائية.

وفى حالاتٍ أخرى، يصل حجم وعاء التخمر إلى ١٠٠ متر مكعب - ١٥٠ متراً مكعباً فى مصانع إنتاج البنسلين، وإنزيمات التحليل المائى للبروتينات *proteases*، وإنزيمات تحليل النشا *amylases*، وأيضاً المصانع المهتمة بالتحويلات الستيرويدية *ster-oid conversions*، والأخرى المنتجة للأحماض الأمينية. وقد تصل هذه الأوعية إلى أحجام عملاقة؛ كما هى الحال فى حالة إنتاج البروتين الميكروبى *single cell protein*؛ حيث يصل حجم الوعاء الواحد إلى أكثر من ٤٥٠ متراً مكعباً.

ومن الأهمية بمكان التحكم فى درجات الحرارة والتهوية والضغط داخل وعاء التخمر، كما يجب ضبط معدل تقليب البيئة السائلة داخله، ومعدل طفو المواد الرغوية؛ حتى يمكن الحصول على منتج نهائى عالى الجودة. وعادة ما يستخدم الحاسب الآلى للتحكم فى مجموع هذه العوامل؛ للوصول إلى أفضل ظروف إنتاج.

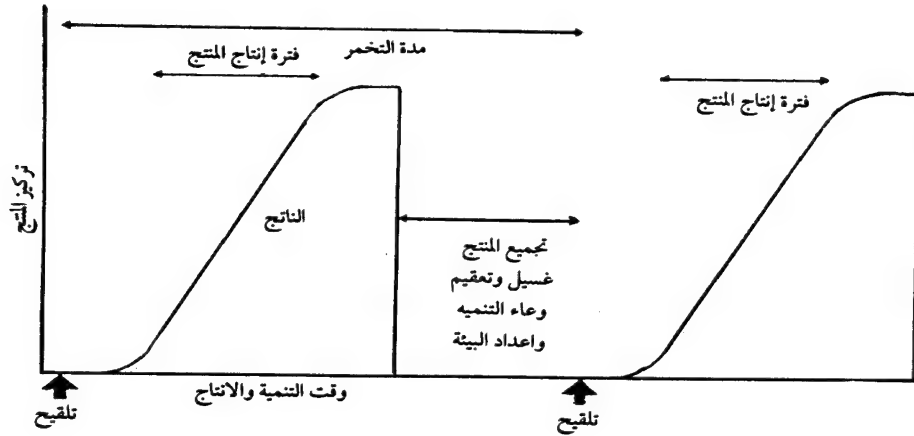
٤- تقنيات التنمية:

تستخدم عديد من التقنيات لتنمية الفطريات على محاليل البيئة الغذائية؛ منها التنمية على دفعات *batch culture*، والتنمية على دفعات متزايدة *fed batch culture*. وتعتبر الطريقتان السابقتان من الطرق القديمة الشائعة الاستخدام. إلا أن هناك طرقاً أخرى أقل استخداماً، مثل تقنية التنمية المستمرة *continuous culture* التى تستعمل بصفة أساسية على النطاق البحثى والمعمل.

أ- التنمية على دفعات Batch culture

يعتبر نظام التنمية على دفعات نظاماً مغلقاً لتنمية الفطر على كمية محدودة من البيئة الغذائية. وبعد إضافة اللقاح الفطري، ينمو الفطر مكوناً خلايا جديدة مستهلكاً المادة الغذائية المضافة عند بدء التنمية.

وتتميز هذه الطريقة بانخفاض تكاليفها، ولكن يعيبها ارتباط معدلات الإنتاج بمعدل نمو الفطر؛ ومن ثم فإن المواد الناتجة عن التمثيل الغذائي للفطر هي جزء من دورة النمو. ويمكن تمثيل ذلك بيانياً في الشكل التالي:-



شكل (٢٨) : رسم بياني يوضح معدل إنتاج الفطر من المادة الهامة صناعياً وعلاقة ذلك بمعدل نموه خلال التخمير على دفعات.

ب - التنمية على دفعات متزايدة Fed batch culture :

بدأ استخدام هذا النظام من تنمية الفطريات على فطريات الخميرة مع مطلع القرن العشرين؛ وذلك للتحكم في نمو خميرة الخباز *Saccharomyces cerevisiae*.

ولقد وجد Crabtree (1929) أن استخدام المولت بتركيز عالٍ من بداية نمو فطر الخميرة *S.cerevisiae* تحت الظروف الهوائية يؤدي إلى تحول الخلايا إلى إنتاج كحول الإيثانول، بدلاً من إنتاج كتلة حيوية من خلايا الخميرة، أما إذا أضيف المولت بكميات ضئيلة، فإنه يصبح عاملاً محدداً للنمو؛ لذلك تمت إضافة المولت بكميات متزايدة كل ساعة؛ بحيث أصبح تركيز المولت عاملاً محدداً للنمو.

ومنذ الحرب العالمية الثانية انتشرت هذه الطريقة في إنتاج الجليسرول والأحماض العضوية والمذيبات العضوية. والآن.. تستخدم هذه الطريقة على نطاق واسع في إنتاج كثير من أنواع المضادات الحيوية كالبنسلين، وأيضاً إنتاج الفيتامينات، وهرمونات النمو، والإنزيمات، وغيرها من مواد حيوية هامة باستخدام الفطريات.

وفي هذه الطريقة يتم التحكم في نمو الفطر؛ إما بطريقة مباشرة، وإما بطريقة غير مباشرة؛ فمن خلال الطريقة المباشرة تتم إضافة كمية ثابتة من مصدر كربوني ما كل فترة زمنية محددة، أو بمعدل إضافة ثابت، أو بمعدل يزيد بزيادة النمو اللوغاريتمي للفطر.

أما الطريقة غير المباشرة فيتم فيها التحكم في نمو الفطر وذلك عن طريق التحكم في رقم حموضة البيئة، أو تركيز الأكسوجين، أو معدل التنفس وغير ذلك من عوامل مؤثرة على نمو الفطر. وتتميز هذه الطريقة بإمكانية استخدام مصادر كربون مختلفة تعمل على تثبيط النمو الفطري في تركيزاتها العالية؛ مثل كحول الإيثانول، أو المركبات العطرية، وغيرها. كما يؤدي ذلك إلى زيادة الكتلة الحيوية للفطر.

فعلى سبيل المثال، وجد أن استخدام هذه الطريقة في تنمية خميرة الخباز يؤدي إلى زيادة الكتلة الحيوية إلى عشرة أضعاف وزنها؛ بالمقارنة بطريقة التنمية على دفعات *batch culture*.

ومن المميزات الأخرى لطريقة التنمية على دفعات متزايدة إمكانية إنتاج المنتجات الثانوية للتمثيل الغذائي للفطريات *secondary metabolites*؛ حيث إن معظم هذه

المنتجات لا يرتبط تكوينها بنمو الفطر، بل يتم تكوينها خلال طور الثبات stationary phase؛ ومن ثم، يمكن زيادة معدل نمو الكتلة الحيوية، ثم يتم التحكم خلال طور الثبات بإعطاء الكمية اللازمة لحفظ حياة الفطر وإنتاج المنتج الثانوى.

كما تتميز هذه الطريقة بعدم حدوث تثبيط خلفي feed back inhibition، وكذلك تقل فيها فرص التلوث بميكروبات غير مرغوبة، وتقل حدوث الطفرات أو فقد البلازميد الحامل للصفات الوراثية المرغوبة، كما هي الحال فى طريقة المزارع المستمرة continuous cultures. إلا أنه يعيب طريقة التنمية على دفعات متزايدة زيادة تكاليف الأجهزة اللازمة للإضافة والتحكم، كما يجب أن يكون القائمون على العمل من ذوى الخبرة، وعلى درجة عالية من الكفاءة.

ج - التنمية بالطريقة المستمرة continuous culture:

تستخدم هذه الطريقة فى بعض الصناعات التخميرية منذ فترة طويلة، كما أنها تستخدم على نطاق واسع فى معامل البحوث لدراسة طبيعة نمو الفطريات المستخدمة فى الصناعة وتمثيلها الغذائى والمواد الناتجة منها؛ سواء الأولية، أم الثانوية، وكذلك فسيولوجيا الفطر والعوامل المؤثرة على سلوك مثل هذه الفطريات الصناعية.

وتعتمد هذه الطريقة من طرق تنمية الفطريات على إطالة الطور الوغاريتمى - log phase لنمو الفطر؛ وذلك عن طريق إضافة أحد المكونات الغذائية، وسحب حجم يساوى حجم الإضافة السابقة من البيئة المحتوية على بعض الخلايا الفطرية النامية؛ وذلك حتى يظل حجم البيئة فى وعاء التخمير ثابتاً، مع ثبات معدل نمو الفطر rate of growth.

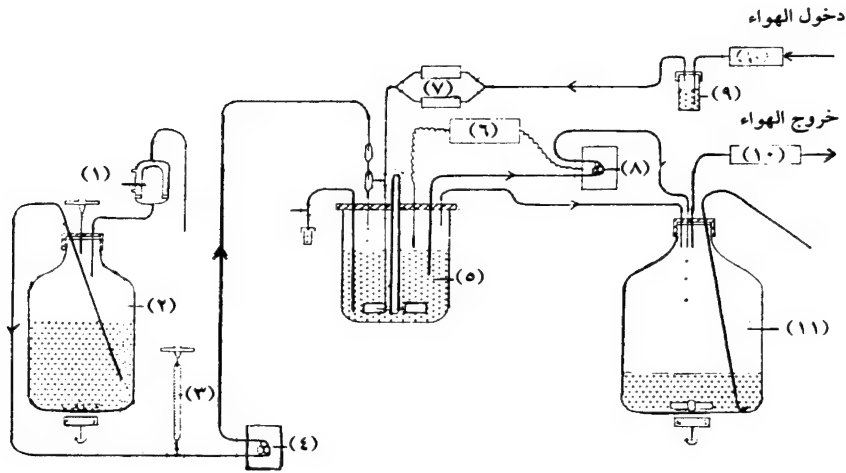
وتحت الظروف السابقة، تسود حالة من الثبات فى ظروف تنمية الفطر فى وعاء التخمير؛ مما يسبب ثبات معدل إنتاج المنتج النهائى. ويطلق على هذه الحالة اسم وضع الثبات steady state. وعلى الرغم من ميزة ثبات نمو الفطر وكمية وجودة المادة الناتجة لفترة إنتاجية طويلة تحت الظروف المثلى، إلا أنه يعيبها ارتفاع تكاليف الأجهزة المستخدمة، وزيادة احتمالات التلوث، والتغيرات الوراثية، وفقد البلازميد.

وهناك عديد من التقنيات المستخدمة للتنمية بالطريقة المستمرة؛ منها تقنية الثبات الكيميائي **chemostat**، وفيها يتم توفير جميع الاحتياجات الغذائية للفطر المستخدمة في التخمر الصناعي فيما عدا أحد العناصر الغذائية الذي يكون عاملاً محدداً للنمو. ويتم إضافة هذا العنصر الغذائي عندما يصل نمو الفطر إلى حالة الثبات **steady state**؛ بحيث يكون معدل التخفيف ثابتاً، وتكون كمية البيئة المضافة معادلةً لكمية البيئة الخارجة من وعاء التخمر، ومن ثم يكون معدل التخفيف مساوياً لمعدل النمو النوعي. أما النوع الثاني من هذه التقنيات، فهو تقنية ثبات درجة عكارة بيئة التغذية **turbi-dostat**، وهو من التقنيات الأقل انتشاراً؛ نظراً لصعوبة تشغيله. وفي هذا النظام تحتوي البيئة الغذائية على جميع العناصر التي يحتاج إليها الفطر وزيادة؛ بحيث تتاح له فرصة النمو حتى أقصى معدل نمو نوعي **specific growth rate**.

ويتم التحكم في كثافة نمو خلايا الفطر النامية في محلول البيئة عن طريق قياس الكثافة الضوئية (درجة العكارة **turbidity**)، وتثبيتها عند كثافة الخلايا المطلوبة باستعمال خلية ضوئية، والتي بواسطتها يتم إعطاء إشارة كهربية؛ بإضافة كمية من البيئة عند حدوث تغير في النمو.

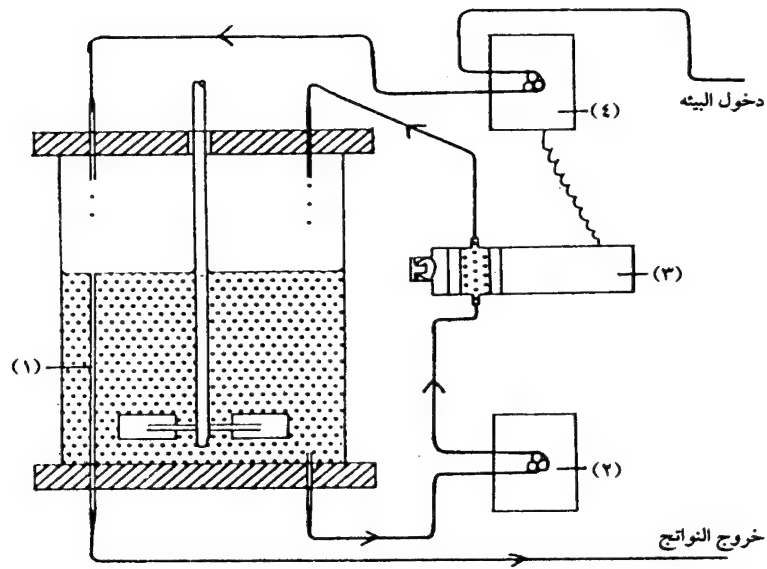
ويعيب هذا النوع من التقنيات المستخدمة في إنماء الفطر بالطريقة المستمرة احتمال عدم الدقة الناتج عن نمو الخلايا على جوانب الخلية الضوئية، كما أن فقاعات الغازات الناتجة من التخمر قد تؤثر على حساسية الخلية الضوئية في قياس عكارة المحلول.

وبالإضافة إلى ماسبق، توجد تقنيات أخرى تستخدم في المزارع المستمرة، لكنها أقل أهمية من التقنيات التي سبقت الإشارة إليها؛ مثال ذلك تقنية ثبات تركيز غاز الأكسوجين **DO₂-stat**، وتقنية ثبات رقم الحموضة **pH-auxostat**، وتقنية ثبات التغذية **nutristat**، وغير ذلك من تقنيات أخرى.



شكل (٢٩) : رسم تخطيطي لمزرعة مستمرة بطريقة الثبات الكيميائي Chemastat.

- ١ - مرشح البيئة .
- ٢ - وعاء البيئة المضافة .
- ٣ - مقياس معدل التدفق .
- ٤ - مضخة دفع البيئة .
- ٥ - وعاء التنمية .
- ٦ - وحدة التحكم في مستوي البيئة .
- ٧ - مرشح هواء مزدوج .
- ٨ - مضخة دفع المنتج .
- ٩ - مرطب الهواء .
- ١٠ - مرشح الهواء .
- ١١ - وعاء استقبال النواتج .



شكل (٣٠): رسم تخطيطي لمزرعة مستمرة بطريقة ثبات درجة العكارة Turbidostat.

- ١ - أنبوبة التحكم في مستوي البيئة.
- ٢ - مضخة دفع دائرية.
- ٣ - وحدة ضوئية للتحكم (خلية ضوئية).
- ٤ - مضخة دفع البيئة.

رابعاً: طرق الحصول على المنتج النهائي :

من أهم المشاكل التي تقابل العاملين في مجال التخميرات الصناعية هي كيفية الحصول على الناتج النهائي في صورة نقية. وتتوقف خطوات تنقية هذا الناتج النهائي على العديد من العوامل؛ منها ظروف الإنتاج، ونوعية وتركيب المنتج، وتركيزه في البيئة، ونوعية المواد المصاحبة للمنتج النهائي، ومدى ثبات هذه المواد تحت الظروف المختلفة، ونسبة ودرجة النقاوة المطلوبة في هذا المنتج، وغير ذلك من عوامل.

وعلى أية حال، يجب مراعاة كلي من تركيز المنتج ودرجة نقاوته؛ حيث يجب أن تؤدي الطرق المستخدمة في الإنتاج إلى الدرجة المثلى لكلي من تركيز الناتج النهائي ونقاوته؛ لذا فهناك ارتباط وثيق بين كلي من العملية الإنتاجية وعمليات التنقية؛ للحصول على الناتج النهائي المرغوب.

وبناءً على ذلك، فإنه يلزم استعمال بيئة غذائية مناسبة للفطر المستخدم في التخمير، كما يجب اختيار سلالة ذات صفات جيدة للفطر، لا ينتج عن إنمائها في البيئة تكوين نواتج ثانوية أخرى تؤثر على عمليات تنقية المنتج النهائي.

ويجب أن يؤخذ في الحسبان أن عمليات تنقية المنتج النهائي من النواتج الأخرى الثانوية من العمليات المكلفة، والتي تؤدي - في النهاية - إلى ارتفاع تكاليف إنتاج المنتج النهائي المرغوب بصورة نقية.

وتتضمن طرق الحصول على المنتج النهائي واحدة أو أكثر من الطرق الآتية:

١- الفصل الميكانيكي للخلايا من بيئة النمو.

٢- تكسير الخلايا؛ للحصول على المكونات الداخلية (في حالة الاحتياج إلى ذلك).

٣- الاستخلاص باستعمال المذيبات، أو البللورة، أو التبخير، أو التجفيف، أو الترشيح، أو غير ذلك من تقنيات.

٤- الفصل الكروماتوجرافى.

وعادة ما يتم فصل الخلايا الفطرية من البيئة الغذائية عن طريق الترسيب **settling**؛ حيث يترك النمو الفطرى - كما فى حالة فطريات الخميرة - حتى يترسب فى قاع وعاء التخمر بفعل الجاذبية الأرضية، دون استخدام أية مواد كيميائية مضافة إلى البيئة.

وقد تستخدم طريقة التجميع **flocculation** فى فصل خلايا الفطر؛ وذلك عن طريق إضافة إحدى المواد التى تعمل على تجميع الخلايا؛ فيزداد معدل ترسيبها؛ مثال ذلك إضافة الجيلاتين، أو حمض التانيك، أو أحد مركبات الأمونيوم الرباعية، أو أحد الأملاح الثنائية التكافؤ، أو بعض المواد المصنعة:

ويجب الطريقة السابقة أنها تحتاج إلى وقتٍ طويلٍ لإتمام ترسيب خلايا الفطر فى قاع وعاء التخمر، كما أن المواد المضافة بغرض تجميع خلايا الفطر قد تؤثر على المنتج النهائى. وبالإضافة إلى ماسبق، فإن هذه الطريقة مكلفة.

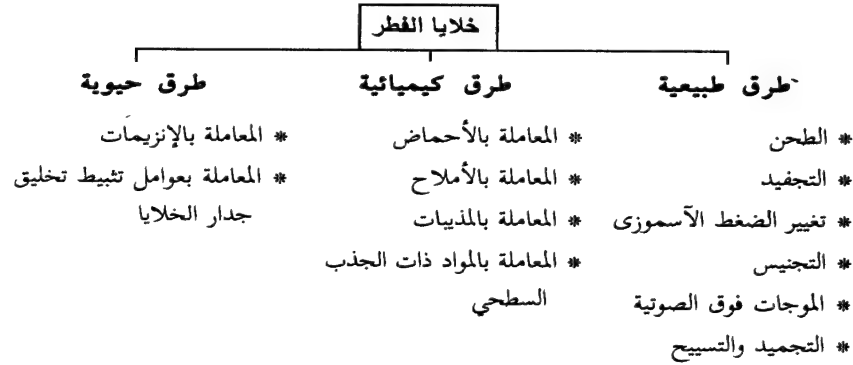
ولتجنب العيوب السابقة، يفضل استخدام طريقة الطرد المركزى لفصل الخلايا الفطرية - سواء جراثيم، أم نموات هيفية - عن بيئة النمو. وعادةً ما يستخدم جهاز الطرد المركزى الحلزوني **screw-decater centrifuge** فى فصل خلايا الخميرة أو ميسليوم الفطريات الهيفية عن البيئة الغذائية؛ سواء السائلة، أم نصف السائلة.

وفى بعض الأحيان، يلجأ القائمون على العمل إلى استخدام أجهزة الترشيح

الغشائي، سواء أكانت على دفعات، أم بطريقة مستمرة. وتعتبر هذه الطريقة من أكثر الطرق المستخدمة في فصل ميسليوم الفطريات، كما هي الحال في إنتاج المضاد الحيوي pencillin G من الفطر *Penicillium chrysogenum*.

وهناك حالات خاصة يكون فيها المنتج النهائي المرغوب عبارة عن أحد مكونات خلايا هيفات الفطر؛ لذا يجب تكسير هذه الهيفات للحصول على ذلك المنتج. وتختلف الطرق المتبعة لتكسير خلايا هيفات الفطر؛ حيث يمكن اتباع وسائل ميكانيكية، أو استعمال مواد كيميائية، أو قد يلجأ القائمون على العمل إلى استخدام طرق حيوية.

ويلخص الشكل التالي بعض الطرق المستخدمة لتكسير خلايا هيفات الفطر.



وعادةً ما يستخدم في الإنتاج الصناعي عديد من الطرق الطبيعية لتكسير خلايا الفطر؛ بغرض الحصول على مكونات خلاياه؛ مثال ذلك التجنيس-homogenization. ويتم ذلك -عادةً- بإمرار المعلق المحتوي على خلايا الفطر، أو البيئة الغذائية النامي فيها الفطر - من خلال فتحة ضيقة تحت ضغط مرتفع؛ مما يؤدي إلى تكسير الخلايا.

ومن الأجهزة المستخدمة فى عمليات التكسير السابقة، جهاز الطحن الفرنسى **French press** أو مطحنة هيوز **Hughes press**. وفى بعض الأحيان يلزم طحن خلايا الفطر فى مطاحن زجاجية؛ وهى فى صورة مبردة أو مجمدة، مع إضافة كرات من الزجاج أو حبيبات الرمل أو جزيئات من البلاستيك الصلب؛ بغرض زيادة كفاءة عملية طحن الخلايا وتكسيرها.

كما يمكن استخدام الموجات فوق الصوتية **ultrasonic waves** فى تكسير خلايا الفطر، إلا أن ذلك قد يؤثر على المنتج النهائى، الذى يكون أكثر حساسية للحرارة المتولدة من مثل هذه المعاملة -وأيضاً من عمليات الطحن السابقة-؛ مما يؤثر على جودة هذا المنتج.

وفى مثل الحالات السابقة، يلجأ القائمون على العمل إلى تكسير خلايا الفطر باتباع أساليب أخرى غير طحن الخلايا، ومن أهم هذه الأساليب استعمال المواد الكيميائية.

فعلى سبيل المثال، يمكن استخدام بعض الأحماض العضوية لتكسير خلايا الكائنات الحية الدقيقة التى لاتتحمل الأحماض، وقد تستخدم بعض المواد الناشرة ذات الجذب السطحي **detergent**؛ مثل مادة توين **Tween**، ومركب **sodium lauryl sul-** fate، بالإضافة إلى مركبات الأمونيوم الرباعية وغيرها، التى تعمل على تغيير طبيعة الليبوبروتين بالغشاء السيتوبلازمى؛ مما يعمل على خروج مكونات الخلية.

وقد تستخدم بعض المذيبات العضوية؛ مثل الايزوبروبانول والأسيتون وخلات الإيثيل، التى تعمل على إذابة الدهون الموجودة فى الغشاء السيتوبلازمى للخلية الفطرية. وفى حالات أخرى، يوضع المعلق المحتوى على خلايا الفطر فى محلول عالى الأسموزية؛ مما يسبب حدوث بلزمة للخلايا وتقطع الأغشية السيتوبلازمية، كما يمكن تجفيد خلايا الفطر، ثم طحنها لتكسير خلايا الميسليوم الفطرى.

وبالإضافة إلى الطرق السابقة، قد يلجأ العاملون إلى الطرق الحيوية (البيولوجية)؛

وذلك بغرض تكسير خلايا الفطر؛ للحصول على المكونات الداخلية. وتعتمد هذه الطرق البيولوجية على تحلل خلايا الفطر تحللاً ذاتياً بفعل الإنزيمات الداخلية؛ مثال ذلك إنتاج مستخلص الخميرة ومشتقاتها. وفي حالات أخرى يمكن إضافة إنزيمات من مصدر خارجي تعمل على تحليل جدار الخلية، أو تثبط تكوين الجدار الخلوي، إلا أن مثل هذه الطرق باهظة التكاليف.

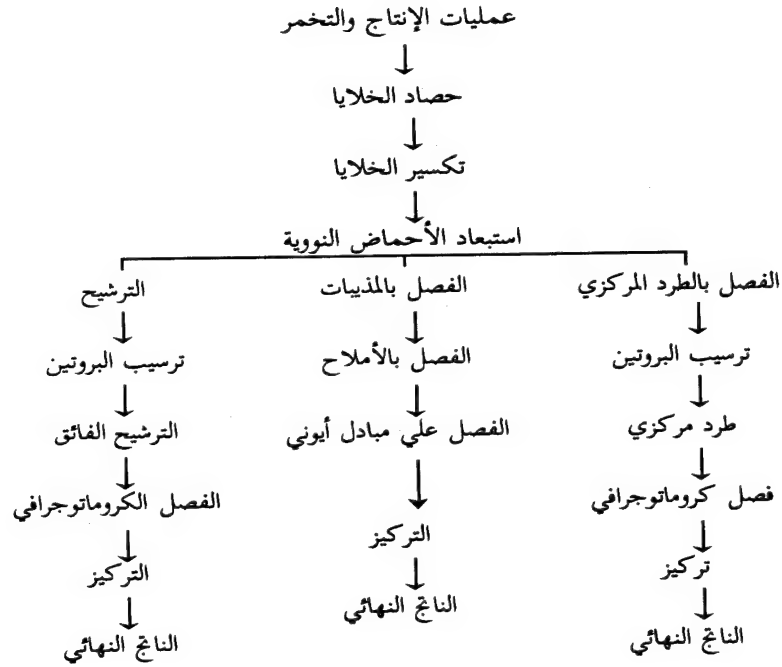
وبعد تكسير الخلايا، يتم ترسيب الأحماض النووية باستخدام مادة كبريتات البروتامين **protamin sulphate** أو المضاد الحيوى سترىتومايسين. وبعد الانتهاء من هذه المرحلة يتم الحصول على المكونات الذائبة فى خلايا الفطر.

وتتشابه طرق الحصول على المكونات الذائبة من الخلايا الفطرية مع تلك الذائبة فى البيئة الغذائية التى ينمو فيها الفطر. وتعتمد طرق الفصل على حجم الجزيء المراد فصله أو على ترسيبه أو ادمصاصه، أو على المبادلات الأيونية **ion exchange**، أو على طريقة الاستخلاص.

ومن الطرق المتبعة فى فصل المواد الذائبة على أساس حجم الجزيئات، طريقة التركيز باستخدام الآسْمُوزِيَّة العكسية **reverse osmosis**. وفى هذه الطريقة يتم تمرير محلول البيئة الغذائية المحتوية على المادة الذائبة المراد فصلها خلال مرشح تحت ضغط، يعمل على حجز جميع الجزيئات، ماعدا الماء وبعض الأملاح الذائبة ذات الوزن الجزيئى الصغير.

وفى حالات أخرى، يمكن استخدام الترشيح الفائق **ultrafiltration**؛ حيث يمرر محلول البيئة الغذائية من خلال مرشح تحت ضغط، يحجز الجزيئات ذات الوزن الجزيئى الكبير، بينما تمر الجزيئات ذات الوزن الجزيئى الصغير. وقد تستخدم طريقة الترشيح خلال أعمدة الجيل **gel filtration**؛ حيث تنفصل مكونات المحلول تبعاً لوزنها الجزيئى خلال عمود الجيل؛ ومن ثم تحدث تنقية جزئية لمكونات المحلول الغذائى؛ بحيث تفصل كل مجموعة ذات وزن جزيئى متشابه عن المجموعات الأخرى.

ويمكن استخدام طريقة الترسيب precipitation لفصل مكونات بيئة نمو الفطر؛ وذلك باستخدام الأملاح؛ مثل كبريتات الأمونيوم، أو باستخدام المذيبات العضوية. وفي حالات أخرى يمكن اللجوء إلى تغيير رقم حموضة البيئة؛ للوصول إلى نقطة التعادل الكهربى، أو قد تستخدم مواد مجمعة flocculating agents تعمل على زيادة معامل الترسيب.



شكل (٣١): بعض طرق فصل وتنقية الإنزيمات والمواد البروتينية المتكونة داخل خلايا الفطر.

وقد تستخدم طريقة الاستخلاص بالمذيبات؛ اعتماداً على مدى ذوبان المنتج في مذيب ما دون مذيب آخر. وقد تستخدم مواد تمتاز بقدرتها على الادمصاص-adsorption أو الامتصاص absorption، أو تستعمل مبادلات أيونية في حالات الفصل الدقيق لمكونات البيئة الغذائية، أو طريقة الفصل بالهجرة الكهربائية electrophoresis، وغير ذلك من طرق الفصل.

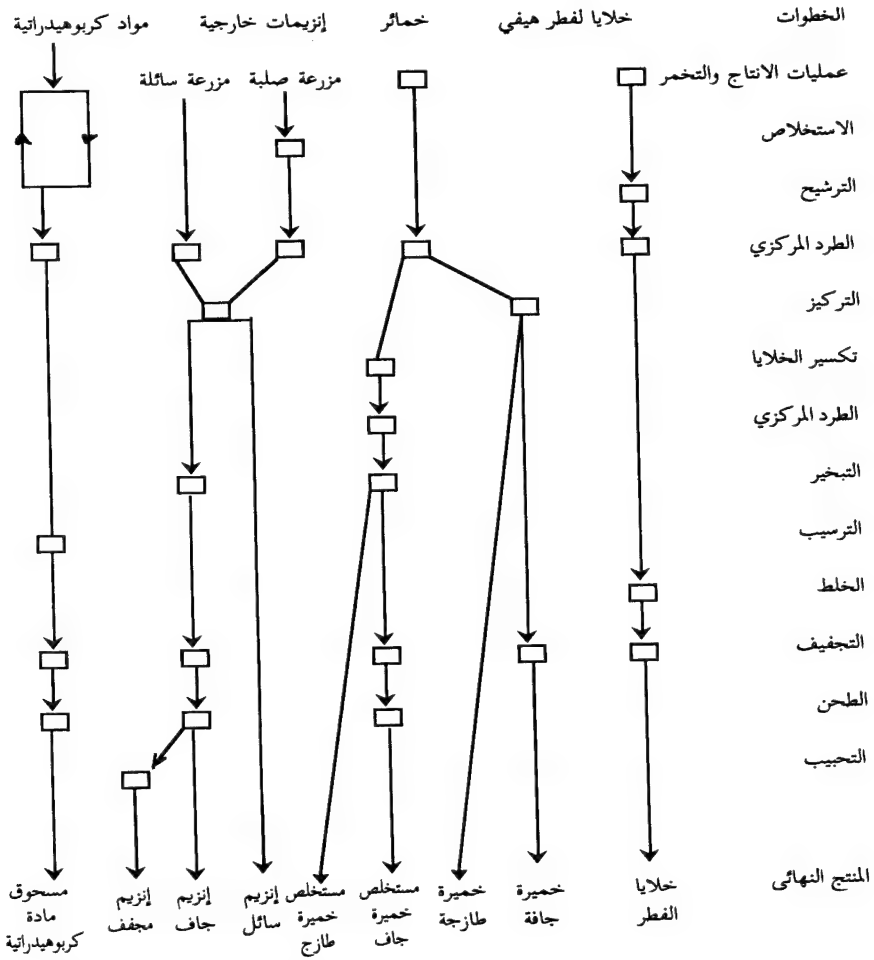
ويوضح شكل (٣١) بعض طرق فصل وتنقية الإنزيمات والمواد البروتينية المتكونة داخل خلايا الفطر، بينما يوضح شكل (٣٢) بعض طرق نقل نواتج التمثيل الغذائي الخارجية، وشكل (٣٣) أمثلة لبعض طرق فصل نواتج التمثيل الغذائي الفطرية غير المتطايرة.

ويلاحظ من الأشكال السابقة اختلاف مراحل استخلاص وتنقية المركبات المختلفة الناتجة عن التمثيل الغذائي للفطر المستخدم في التخمير؛ ففي المواد التي تتكون داخل خلايا الفطر -مثل الإنزيمات الداخلية والمواد البروتينية الخلوية- يلزم للحصول عليها تكسير الخلايا.

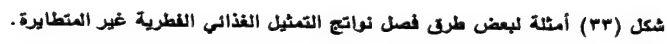
وتحتاج عملية استخلاص الأحماض النووية إلى ترسيب البروتين، أو اللجوء إلى الترشيح بأنواعه المختلفة، ثم الفصل الكروماتوجرافي بعد ذلك. وفي حالات أخرى يمكن استخدام المذيبات، ثم يتبعه الفصل الكروماتوجرافي.

وفي حالة المواد الناتجة عن التمثيل الغذائي للفطر -والتي يفرزها خارج خلاياه في بيئة النمو؛ مثل الإنزيمات الخارجية، والسكريات العديدة- فإن هذه المواد تحتاج -أيضاً- إلى استخلاص مائي، يتبعه الطرد المركزي؛ نظراً لارتفاع لزوجة البيئة الغذائية المحتوية على مثل هذه المواد.

وقد يلجأ العاملون في هذا المجال إلى ترشيح البيئة الغذائية تحت تفريغ؛ كما هي الحال في الفطريات الهيفية، أو إلى الترسيب كما في حالة فطريات الخمائر. وبعد ذلك يمكن تجفيف الخلايا الفطرية، كما هي الحال في إنتاج الخميرة الجافة dry yeast، أو يتم تركيز الخلايا؛ كما هي الحال في إنتاج الخميرة الطازجة (خميرة الخباز).



شكل (٣٢): أمثلة لبعض طرق نقل نواتج التمثيل الغذائي الخارجية من بعض الفطريات المستخدمة في الصناعة.



وفى حالة الإنزيمات الخارجية، فإن المحلول الناتج بعد إجراء عملية الطرد المركزى -والذى يخلو من خلايا الفطر- يمكن استخدامه كمصدر رئيسي للإنزيم بطريقة مباشرة. وقد يرسب هذا الإنزيم باستخدام الأملاح، ثم يجفف، ويحبب **gran-ulation**. وفى حالات أخرى، يمكن تحميل هذا الإنزيم على مواد حاملة أو قد يستخدم على صورته السائلة.

وبالنسبة إلى نواتج التمثيل الغذائى للفطر ذات الطبيعة غير المتطايرة، فإنه يتم الحصول عليها من نواتج الطرد المركزى للبيئة الغذائية النامى عليها الفطر، بعد تمام نموه والتخلص من خلاياه. ولكن هناك حالات أخرى يكون فيها الناتج المرغوب فى صورة مترسبة فى قاع وعاء التخمر؛ كما هى الحال فى حمض الإيتاكونيك **ita-conic acid**، ومادة لاكتات الكالسيوم **calcium lactate**؛ لذا تجب إذابة هذه المواد قبل إجراء عملية الطرد المركزى لبيئة نمو الفطر.

وتختلف عمليات التنقية تبعاً لنوع المركب المراد فصله والحصول عليه بصورة نقية. ويوضح شكل (٣٣) بعض الأمثلة لطرق فصل المنتجات الفطرية غير المتطايرة؛ مثل المضادات الحيوية -كالبنسلين، والسيفالوسبورين- وبعض الأحماض العضوية -مثل حمض الستريك والإيتاكونيك- وغير ذلك من نواتج التمثيل الغذائى للفطريات.

وعلى أية حال، يجب حساب نسبة الفاقد خلال عمليات التنقية، والتى تختلف تبعاً لحساسية المركب الناتج. ويوضح جدول (٨) بعض الأمثلة لنسبة الفاقد فى بعض عمليات التخمرات الصناعية التى تجرى باستعمال الفطريات.

ويجب أن يؤخذ فى الحسبان -عند تقييم الإنتاج التجارى لإحدى المواد الهامة اقتصادياً والناتجة من التمثيل الغذائى للفطريات من خلال التخمر الصناعى- تكاليف المواد الكيميائية المستخدمة فى مراحل التنقية، والأجهزة المستخدمة لهذا الغرض؛ حيث إن ذلك كله -بجانب نسبة الفاقد من هذه المادة خلال عمليات الاستخلاص والتنقية- سوف يحدد سعر المنتج النهائى.

جدول (٨) : النسبة المئوية للفاقد من المنتج النهائي لبعض عمليات التخميرات الفطرية الصناعية خلال عمليات التنقية.

الناتج النهائي	نسبة الفاقد (%)
الكتلة الحيوية	٥
المضادات الحيوية	٥٠-٢٠
الإنزيمات الداخلية	٩٠
الإنزيمات الخارجية	١٠

الباب الثامن

إنتاج المواد الكيميائية بواسطة الفطريات

إنتاج المواد الكيموحيوية بواسطة الفطريات

مقدمة : نواتج التمثيل الغذائي للفطريات :

تنتج الفطريات مدى واسعاً من المواد الكيموحيوية خلال تمثيلها الغذائي، يمكن اعتبار معظمها مواد هامة لنمو الفطر، وتكوين خلايا وتراكيب جديدة - مثال ذلك الجزيئات الكبيرة الحجم الأساسية؛ مثل البروتينات، والأحماض النووية، والدهون - مما يجعل الفطريات تستكمل نموها وتنتج كتلة حيوية **biomass**؛ لذا يطلق على مثل هذا التمثيل الغذائي اسم «التمثيل الغذائي الأولي **primary metabolism**».

وعندما يستكمل الفطر نموه - مكوناً مستعمرة كبيرة - تنمو خيوطه الهيفية ممتدة نامية على مناطق جديدة؛ للحصول على مزيد من العناصر الغذائية التي تضمن استمرار نموه ونشاطه. وخلال هذه المرحلة النشطة من نمو الفطر، فإنه يكون بعض المواد الناتجة من هذا التمثيل الغذائي الأولي، والتي يطلق عليها «النواتج الأولية للتمثيل الغذائي **primary metabolites**».

وعندما يتعرض النمو الفطري لظروف ما تؤدي إلى تثبيطه وعدم استكمالها (مثل نقص العناصر الغذائية، أو غير ذلك من عوامل)، فإن هذه النواتج الأولية تتراكم في البيئة. وبعض هذه النواتج الأولية الناتجة من التمثيل الغذائي للفطريات ذات أهمية اقتصادية بالغة للإنسان؛ مثل بعض الأحماض العضوية؛ كحمض الستريك الذي

يستعمل فى صناعة عديد من أنواع الأغذية والمشروبات غير الكحولية؛ كما يدخل فى صناعة الأدوية.

ومن النواتج الأولية الأخرى الناتجة من التمثيل الغذائى للفطريات - والتي تنتجها خلال مرحلة نشاطها - بعض الكحوليات الهامة اقتصاديًّا؛ مثل كحول الإيثانول الذى يستعمل فى إنتاج المشروبات الكحولية وبعض الأدوية.

ويؤدى استهلاك النمو الفطرى النشط للعناصر الغذائية الموجودة فى بيئة النمو - سواء أكانت البيئة الطبيعية التى ينمو فيها الفطر، أم تلك البيئة الغذائية المجهزة لنموه فى المعمل - إلى تقليل هذا النمو، بينما تعمل خلايا ميسليوم الفطر تحت هذه الظروف على تحويل مسارات تمثيلها الغذائى؛ حيث تسلك مسارات كيميائية غير مألوفة للفطر؛ مما يمنع من التسمم الذاتى، ويحافظ على الآلية الكيميائية للخلايا ، cell biochemical machinery

وعند هذه المرحلة من ثبات نمو الفطر stationary phase تتحول المواد المتراكمة عن التمثيل الغذائى الأولى - ويقصد بها النواتج الأولية primary metabolites - وكذلك تتحول المركبات الوسيطة intermediate compounds إلى منتجات أخرى مختلفة يطلق عليها اسم «النواتج الثانوية للتمثيل الغذائى secondary metabolites» .

ولا تتكون هذه النواتج الثانوية خلال النمو النشط للفطر فى معظم الأحيان، كما أنها ليست ضرورية لانقسام الخلايا وتكوين نموات فطرية جديدة، ولا للتكاثر المعتاد للفطر، ولكنها تتكون بعد فترة من نمو الفطر، عندما يتعرض لظروف معينة يتوقف نموه بسببها.

وبعض هذه المواد الناتجة من التمثيل الغذائى الثانوى للفطر عبارة عن جزيئات معقدة complex molecules، يتم تكوينها عندما يكون النمو الفطرى غير نشط. وقد يتزامن تكوين مثل هذه المواد مع تكوين الفطر لجراثيمه فى بعض الحالات.

وتمثل عديد من هذه النواتج الثانوية التي تنتجها الفطريات أهمية كبيرة لحياة الإنسان؛ ومثال ذلك المضادات الحيوية والإنزيمات والفيتامينات، إلا أن بعضها شديد الخطورة؛ مثل التوكسينات الفطرية *mycotoxins* التي تضر بصحة الإنسان والحيوان.

وتتشابه معظم الفطريات في تكوينها للمواد الأولية الناتجة من التمثيل الغذائي؛ ويرجع ذلك إلى أن التخليق الحيوي للوحدات البنائية المكونة لهيفات الفطريات المختلفة متشابه إلى حد بعيد. وعلى الرغم من اختلاف المدى الغذائي الذي يمكن أن تنمو عليه الفطريات في الطبيعة، إلا أن هذه الفطريات قد حباها الله - سبحانه وتعالى - قدرات عظيمة لتحويل هذه المواد الغذائية المتباينة عبر مسارات التمثيل الغذائي الأولى؛ لتكوين نفس الوحدات البنائية.

وعندما يتعرض الفطر لبعض العوامل التي تحد من نموه وتقلل من نشاطه، فإن ذلك يؤدي إلى تراكم نواتج التمثيل الغذائي الأولى وبعض المركبات الوسطية في بيئة النمو. ولقد اعتمد الإنتاج التجارى للمواد الناتجة من التمثيل الغذائي الأولى والثانوى للفطريات على هذه الظاهرة، واستغلها إلى أبعد الحدود (جدول ٩).

فعلى سبيل المثال، أمكن إنتاج حمض الستريك تجارياً بكميات تصل إلى عدة مئات من آلاف الأطنان سنوياً؛ وذلك كناتج أولي للتمثيل الغذائي للفطر *Aspergillus niger*.

ويمكن الحصول على حمض الستريك فى المعمل بتنمية الفطر *A. niger* على الجلوكوز كبيئة للنمو، إلا أن ذلك يعتبر باهظ التكاليف عند إنتاج هذا الحمض على نطاق تجارى؛ لذا يستخدم المولاس المتخلف من صناعة سكر القصب لهذا الغرض.

وتتبع تقنية التنمية على دفعات *batch culture* فى إنتاج حمض الستريك؛ حيث

يخفض رقم حموضة البيئة الغذائية (المولاس) إلى رقم -٢، فيؤدي ذلك إلى انخفاض معدل نمو الفطر؛ نظراً لانخفاض الحموضة؛ حيث إن رقم الحموضة المناسب حوالي ٥-٦. وفي هذه الحالة يقوم الفطر بتحويل السكر إلى حمض ستريك، دون أن يمثل غذائياً. ويؤدي ذلك إلى تراكم الحمض في بيئة نمو الفطر دون استهلاك.

وتعتبر هذه التقنية في إنتاج حمض الستريك باستعمال الفطر *A. niger* تقنية في غاية الحساسية للتوازن بين العناصر الغذائية في بيئة نمو الفطر، كما تلعب المعادن النادرة **trace metals** دوراً هاماً في هذا التوازن.

فإذا كان تركيز الحديد أو المنجنيز مرتفعاً جداً في البيئة الغذائية للفطر، تكونت مواد أخرى غير مرغوبة بدلاً من حمض الستريك، وتراكمت في البيئة؛ لذا فإنه يجب التحكم في مكونات البيئة الغذائية النامي فيها الفطر؛ للحصول على المادة المرغوبة.

ومن ناحية أخرى يمكن تقسيم المواد الناتجة من التمثيل الغذائي للفطريات إلى مواد يشيع إنتاجها كنواجج للتمثيل الغذائي **gneral metabolites** .. وهذه المواد تنتجها أنواع عديدة من الفطريات، ومواد أخرى متخصصة **specialised metabolites** تنتجها أنواع محددة من الفطريات دون غيرها.

ومن أمثلة المواد الشائع إنتاجها في الفطريات: حمض الستريك، وكحول الإيثانول، بينما يعتبر إنتاج البوليولان **pullulan** أحد نواجج التمثيل الغذائي المتخصصة التي تنتجها أنواع محدودة من الفطريات. ويرتبط إنتاج هذه المواد الأخيرة بالتمثيل الغذائي الثانوي لبعض الفطريات.

وقد يؤدي التحكم في ظروف البيئة الغذائية - التي ينمى عليها فطر ما - إلى منع إنتاج أحد نواجج التمثيل الغذائي؛ سواء الأولية، أم الثانوية، أو قد يؤدي ذلك إلى زيادة إنتاجها زيادة فائقة. كما أن معدل إضافة السكريات أثناء نمو الفطر قد يؤثر على إنتاج

النواتج الأولية للتمثيل الغذائي له، ولكن ذلك لا يؤثر - فى معظم الحالات - على النواتج الثانوية.

ويمكن التحكم فى قدرة الجينات على تعديل التمثيل الغذائي الثانوى للفطر؛ وذلك بواسطة التحكم فى الإمداد الغذائى فى بيئة النمو؛ من خلال نوع العناصر الغذائية وتركيزها؛ حيث يؤدى نقص بعض العناصر الغذائية الأساسية الهامة إلى انخفاض معدل نمو الفطر؛ مما يشجع التمثيل الغذائي الثانوى.

وعلى العكس مما سبق، فإن توفير قدر كافٍ من المصادر الكربونية البسيطة كالجلوكوز، والمصادر النتروجينية مثل الأحماض الأمينية.. يؤدى إلى تشجيع نمو الفطر، وزيادة التمثيل الغذائي الأولى واستمراره؛ مما يزيد من الكتلة الحيوية للفطر.

وهكذا، فإن المركبات الغذائية التى يقوم الفطر بتمثيلها غذائياً ببطء - مثل النشا، أو اللاكتوز - تؤدى إلى انخفاض معدل نمو الفطر وتشجيع تكوين النواتج الثانوية للتمثيل الغذائي. وفى بعض الحالات يؤثر وجود معادن معينة على التمثيل الغذائي الثانوى للفطر.

ويعتبر خفض معدل النمو - الذى ربما يرتبط بالإمداد الغذائى - من الأهمية بمكان لإنتاج المواد الثانوية الناتجة من التمثيل الغذائي؛ حيث يتم تكوين مثل هذه المواد عندما يتوقف فعل الإنزيمات المسئولة عن التخليق، أو عندما يزداد مستوى تكوين المنتج؛ حيث يؤدى ذلك إلى تثبيط إنتاجه فيما يعرف باسم التثبيط الرجعى *feed back inhibition*.

وهناك عديد من المواد التجارية الناتجة عن التمثيل الغذائي الثانوى لبعض الفطريات؛ مثال ذلك المضادات الحيوية، كالبينسلين الناتج عن الفطر *Penicillium chrysogenum*، والسيفالوسبورين الناتج عن الفطر *Cephalosporium acremonium*، والجريسيوفولفين الناتج عن الفطر *Penicillium griseofulvum*.

وبالإضافة إلى ما سبق، فإن بعض الفطريات (مثل *Claviceps purpurea*) ينتج مواد قلويدية alkaloides ذات أهمية طبية عالية.

جدول (٩) : أمثلة لبعض نواتج التمثيل الغذائي الأولى والثانوى للفطريات التى يتم إنتاجها صناعياً. (عن Wainwright, 1992).

نوع الفطر	نواتج التمثيل الغذائى
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Aspergillus terreus</i> <i>A. niger</i> <i>Ashbya gossypii</i> <i>Sclerotium rolsfii</i> <i>Aureobasidium pullulans</i>	<p>الأولى :</p> <p>كحول الإيثانول</p> <p>حمض الايتاكونيك</p> <p>حمض الجلوكونيك، حمض الستريك</p> <p>البيتاينات (الريبوفلافين)</p> <p>السكريات المعقدة (سكليروجلوكان)</p> <p>(بوليولان)</p>
<i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Cephalosporium acremonium</i> <i>Claviceps purpurea</i> <i>Trichoderma polysporum</i> <i>Fusarium moniliforme</i>	<p>الثانوي :</p> <p>المضادات الحيوية (البينسيلين)</p> <p>(السيفالوسبورينات)</p> <p>قلويدات الأرجوت</p> <p>سيكلو سبورين</p> <p>الجبرلينات</p>

ويتم التحكم فى إنتاج بنزيل البنسلين benzyl penicillin من الفطر *P. chrysogenum* ؛ وذلك بإضافة الجلوكوز إلى بيئة التغذية؛ لتشجيع نمو الفطر، وتكوين كتلة حيوية كبيرة، بينما يضاف سكر اللاكتوز؛ لتشجيع تكوين النواتج الثانوية للتمثيل الغذائي للفطر؛ وأهمها المضاد الحيوى.

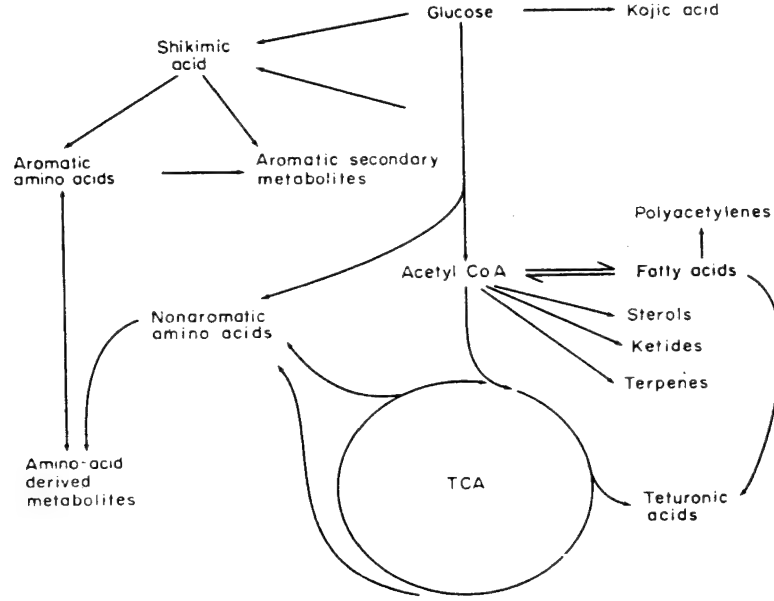
وبالإضافة إلى السكريات المضافة إلى البيئة الغذائية للفطر، تضاف مواد مشجعة للنمو growth factors، ومواد أولية precursors؛ لتشجيع تكوين نواتج التمثيل الغذائي الثانوى للفطر.

وفى الإنتاج التجارى للبنسلين، تستخدم بعض المواد المتخلفة عن الصناعات الغذائية الرخيصة الثمن؛ مثل المواد المتخلفة عن صناعة النشا من الذرة corn-steep liquor، بالإضافة إلى بعض الأملاح المعدنية الهامة لنمو الفطر وتمثيله الغذائى؛ وذلك لإنتاج البنسلين على نطاقٍ واسع.

وفى التجارب المعملية، أمكن التحكم فى إنتاج بنزيل البنسلين عن طريق إضافة الجلوكوز بمعدلاتٍ بسيطةٍ إلى بيئة تغذية الفطر؛ حيث يحقق ذلك إنماء الفطر وتكوين كتلة حيوية تنشط التمثيل الغذائى الأولى، إلا أن معدل النمو يكون بسيطاً؛ مما يشجع تكوين النواتج الثانوية للتمثيل الغذائى.

وعلى ذلك، فإن التحكم السليم فى ظروف البيئة الغذائية التى ينمو فيها الفطر تؤثر تأثيراً مباشراً فى كمية المواد الناتجة من التمثيل الغذائى للفطر، سواء أكانت مواد أولية، أم ثانوية؛ فعلى سبيل المثال يعتبر إنتاج البنسلين حساساً لرقم حموضة البيئة الغذائية، ولدرجة حرارتها، ولتوليفة العناصر الغذائية الموجودة بها.

وقد عمد القائمون على تطوير إنتاج البنسلين إلى إحداث طفراتٍ فى سلالات الفطر *P. chrysogenum*، واختيار أفضل هذه الطفرات؛ حتى أدى ذلك إلى زيادة كمية البنسلين المنتجة تحت ظروف الإنتاج التجارى؛ لتغطية الاحتياجات المتزايدة عليه.



شكل (٣٤): العلاقة بين دورات التمثيل الغذائي الأولى والثانوى فى الفطريات.

ومن المعروف أن النواتج الثانوية للتمثيل الغذائي للفطريات ليست ضرورية لنموه، ولكنها تتكون تحت ظروف خاصة نتيجة مسارات التمثيل الغذائي الثانوى، إلا أن كثيراً من هذه المواد ذات أهمية خاصة لصحة الإنسان؛ نظراً لنشاطها المضاد للفطريات **antifungal activity** والمضاد للبكتيريا **antibacterial activity**؛ مثل المضادات الحيوية، والتوكسينات الفطرية، وغيرها.

وعلى ذلك فإننا يمكننا اعتبار بعض النواتج الثانوية للتمثيل الغذائي للفطريات جزءاً من وسائل المنافسة بين هذه الفطريات وما يحيط بها من أحياء أخرى؛ حيث تعمل هذه النواتج الثانوية كأسلحة هجومية تثبط نمو الأحياء المجاورة، وربما تقتلها.

وقد تكون مثل هذه المواد السابقة ذات النشاط المضاد للأحياء الدقيقة - والتي يفرزها أحد الفطريات كنواج ثانوية لتمثيله الغذائي - مؤثرة عليه هو الآخر؛ نظراً لحساسيته لمثل هذه المواد؛ ولذلك نلاحظ أن معظم هذه الكائنات الحية الدقيقة - ومنها الفطريات بطبيعة الحال - مزودة بآليات معينة تمنع تأثرها بما تفرزه هي من مواد مضادة للحياة.

وفي معظم الحالات، فإن هذه المركبات التي تنتجها الفطريات - كنواج ثانوية للتمثيل الغذائي - يتم تكوينها بعد أن يكون الفطر قد أنهى مرحلة نموه النشط. وفي ذلك الوقت فإن الميسليوم الفطري تكون لديه المقدرة على إزالة سمية المركبات المضادة للحياة، أو على الأقل تمنع دخول هذه المركبات إلى داخل خلايا هيفات الفطر عن طريق تغيير النفاذية الاختيارية للغشاء السيتوبلازمي.

أولاً: إنتاج الأحماض العضوية:

١- إنتاج حمض الستريك:

يستعمل حمض الستريك citric acid في عديد من الصناعات الغذائية؛ مثل إنتاج المشروبات غير الكحولية soft drinks وعصائر الفواكه ومركزاتها، والجبن المطبوخ والحلويات والمثلجات القشدية والمربيات والجيلي، بالإضافة إلى استخدامها مع مخاليط المواد الحافظة؛ حيث يمثل استخدام حمض الستريك في الصناعات الغذائية نحو ٦٠٪ من جملة إنتاجه.

ويصل ما يستخدم من حمض الستريك في صناعة الأدوية إلى نحو ١٠٪ من إنتاجه الكلي؛ حيث تستخدم في صناعة الأملاح الفوارة effervescent salts، كما تستخدم سترات الحديد في صناعة العقاقير الطبية كمصدر للحديد.

ويستخدم حمض الستريك أيضاً في حفظ الدم وبعض منتجاته مثل البلازما، وكذلك في صناعة الأقراص والمراهم الطبية والكريمات، وبعض مستحضرات التجميل الأخرى. وبجانب ذلك يستعمل نحو ربع الإنتاج الكلي من حمض الستريك في صناعة المواد المانعة للرغوة، والتي تستعمل في التخمرات الصناعية.

وبالإضافة إلى ما سبق، هناك استخدامات أخرى لحمض الستريك؛ مثال ذلك صناعة المرايا الفضية، وأحبار الطباعة، وصناعات التعدين، بجانب استعماله في إعداد المنظفات الصناعية كبديل للبولى فوسفات التي تعتبر إحدى المواد الملوثة للبيئة.

وكان المصدر الطبيعي لحمض الستريك هو ثمار الفاكهة - مثل الموالح والكمثرى والأناناس وغيرها - حتى نهاية القرن التاسع عشر، ثم اتجه الإنسان للبحث عن مصادر أخرى بديلة بعد ذلك، وخاصة بعد زيادة الطلب عليه.

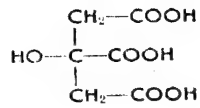
ويعتبر (Wehmer 1893) أول من بدأ إنتاج حمض الستريك صناعياً باستخدام الفطريات؛ خاصة بعض الأنواع التابعة للجنس *Penicillium*، وبعد ذلك بسنوات استطاع (Zahorski 1913) إنتاج هذا الحمض باستعمال الفطر *Sterigmatocystis nigra*؛ الذى عرف بعد ذلك بأنه الفطر *Aspergillus niger*.

ولقد كان الباحثان (Tom & Currie 1916) أول من قاما بإثبات أن الفطر *A. niger* يمكنه إنتاج حمض الستريك صناعياً عن طريق تقنية التخمر السطحي. وفى عام ١٩١٧ نشر Currie بحثاً عن استخدام مواد نقية فى إعداد بيئة للإنتاج التجارى لحمض الستريك باستخدام نفس الفطر، وأثبت أهمية استخدام ٠,٠١ جرام كبريتات حديدوز لإنتاج كمية وفيرة من الحمض.

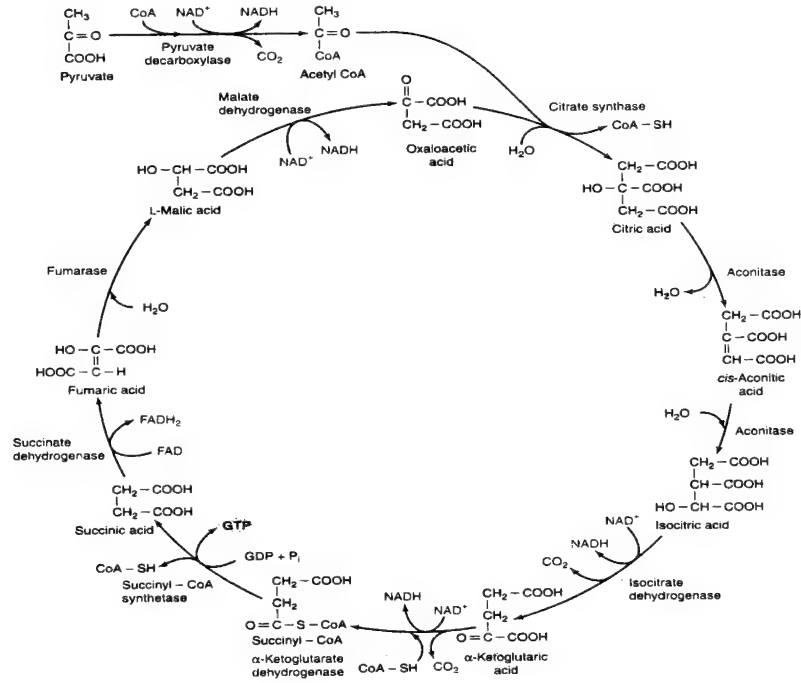
وفى البحث السابق، أوضح Currie أن إنتاجية حمض الستريك تزداد عندما ينخفض معدل نمو الفطر فى بيئة النمو، ثم طور (Doelgar 1934) صناعة حمض الستريك بعد ذلك.

وأنتج حمض الستريك بصورة تجارية لأول مرة عام ١٩٢٣ عن طريق شركة فايزر. وكان الإنتاج العالمى لحمض الستريك عن طريق التخمرات الفطرية يقدر بنحو خمسة آلاف طن عام ١٩٢٩، وهو يصل الآن إلى حوالى ٥٥٠ ألف طن؛ يتم إنتاجها باتباع تقنية التخمر السطحي، أو التخمر العميق فى أوعية تخمر عملاقة يصل حجمها إلى نحو ٢٢٠ متراً مكعباً.

وقد قامت عديد من الشركات العالمية فى ألمانيا وإيطاليا واليابان والتشيك بتطوير إنتاجها من حمض الستريك؛ وذلك بالاعتماد على طريقة (Currie 1917)، مع استبدال الجلوكوز بالمولاس، والاهتمام بالتهوية، وإضافة الأملاح المعدنية لتحسين الإنتاج كمّاً ونوعاً.



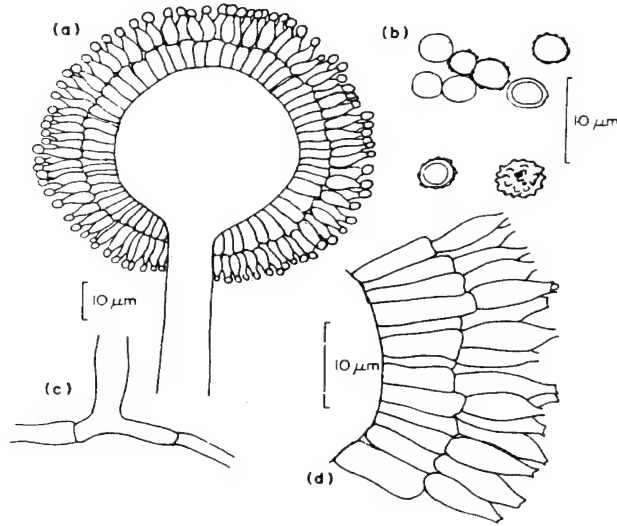
شكل (٣٥) : التركيب الكيميائي لحمض الستريك .



شكل (٣٦) : دورة الأحماض العضوية الثلاثية الكربوكسيل . Tricarboxylic acid cycle (TCA cycle)

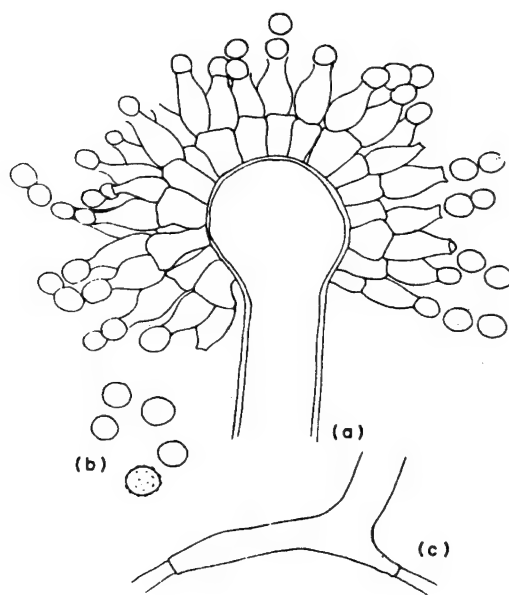
ويتركب حمض الستريك من ثلاث مجموعات كربوكسيلي، ومجموعة هيدروكسيلي واحدة، وهو من المركبات الهامة في دورة كريس (دورة الأحماض العضوية الثلاثية الكربوكسيل Tricarboxylic acid cycle).

وهناك نوعان من الفطريات يُستخدمان بصفة عامة في إنتاج حمض الستريك، يتبعان الجنس *Aspergillus* هما: *A. niger* و *A. wentii* (شكلي ٣٧ و ٣٨)، بالإضافة إلى بعض الخمائر؛ مثل *Saccharomycopsis lipolytica* التي تستخدم مواد غير سكرية لإنتاج هذا الحمض.



شكل (٣٧) : الفطر *Aspergillus niger*

- (a) - الرأس الكونيدى conidial head.
- (b) - كونيديات conidia .
- (c) - خلية القدم foot cell .
- (d) - الفريعات القاعدية metulae والقارورات phialides .



شكل (٣٨) : الفطر *Aspergillus wentii*
 (a) - الرأس الكونيدى conidial head
 (b) - كونيديات conidia .
 (c) - خلية القدم foot cell .

١- تركيب حمض الستريك:

يوضح شكل (٣٥) التركيب الكيميائي لحمض الستريك؛ وهو عبارة عن حمض ٢- هيدروكسى - ٣,٢,١ بروبان تراهى كربوكسيليك. ولقد أمكن الحصول على هذا الحمض متبلوراً فى صورتين: الأولى لامائية anhydrous، والثانية تحتوى على جزء ماء monohydrate .

ويتم الحصول على بلورات حمض الستريك اللامائية؛ وذلك عن طريق بلورته عند حرارة ٢٣٦,٦°م، بينما يمكن الحصول على البلورات المائية بالبلورة على درجة حرارة أقل. ويفضل - على المستوى الصناعى - استخدام البلورات اللامائية لحمض الستريك، وخاصةً فى المخاليط الجافة dry mix؛ وذلك لتجنب تعجن المخلوط أثناء التخزين.

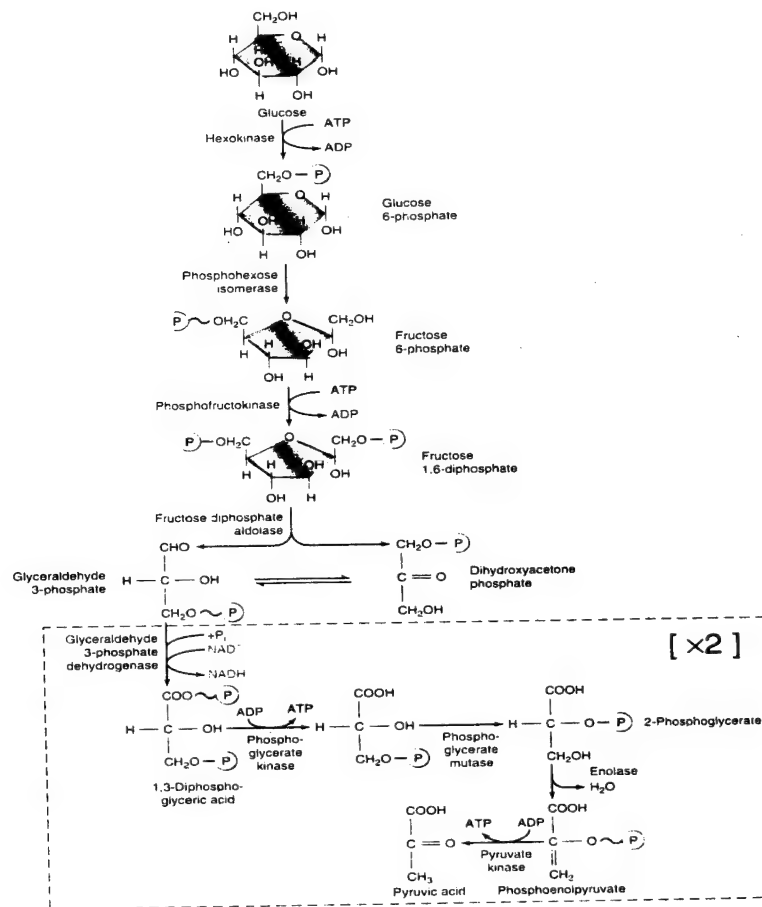
ب- تخليق حمض الستريك:

يتم تخليق حمض الستريك فى معظم الكائنات الحية المنتجة له من الجلوكوز؛ حيث نجد أن ٨٠% من الجلوكوز الموجود فى البيئة الغذائية، يتم تحليله عن طريق دورة الجلوكزة Glycolysis (Embden-Meyerhof pathway) (شكل ٣٩)، بينما يتم تحليل ٢٠% من الجلوكوز عن طريق دورة السكريات الخماسية المفسفرة pentose phosphate pathway (شكل ٤٠).

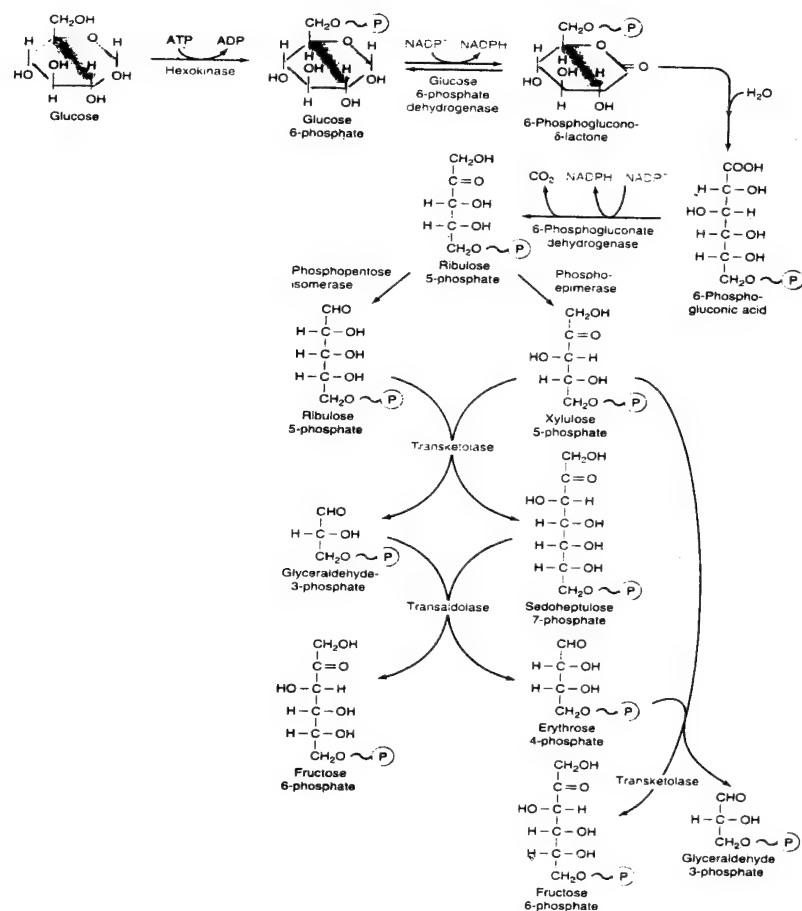
وخلال فترة نمو الفطر على البيئة الغذائية، فإنه يسلك خلال تمثيلة الغذائى للجلوكوز مسارات دورة الجلوكزة، التى تكون فى أوج نشاطها خلال هذه المرحلة من نمو الفطر؛ بحيث يصل نشاطها إلى ضعف نشاط دورة السكريات الخماسية المفسفرة.

ولكن تختلف المسارات الحيوية التى يسلكها الفطر خلال تمثيله الغذائى للجلوكوز فى مرحلة إنتاجه لحمض الستريك؛ وذلك بفعل النشاط التنظيمى للإنزيمات؛ فعلى سبيل المثال تتوفر جميع الإنزيمات المشاركة لدورة السكريات الخماسية المفسفرة خلال هذه المرحلة من نمو الفطر؛ حيث يتم تنشيط هذه الدورة بواسطة إنزيم phosphofructokinase، بينما يتم تثبيطها عن طريق إنزيم pyruvate kinase.

ويزداد نشاط إنزيم citrate synthase خلال مرحلة إنتاج حمض الستريك إلى حوالى عشرة أضعاف نشاطه العادى؛ حيث يودى ذلك إلى زيادة تخليق هذا الحمض فى بيئة التخمر، بينما تثبط الإنزيمات المسؤولة عن استهلاك حمض الستريك الذى



شكل (٣٩) : دورة الجلوكوز (Embden- Meyerhof pathway).



شكل (٤٠): دورة السكريات الخماسية المفسفرة (pentose phosphate pathway): حيث يتحول الفركتوز ٦-فوسفات إلى جلوكوز ٦- فوسفات، الذى يمكنه دخول دورة الجلوكزة، أو يعود مرة أخرى إلى دورة السكريات الخماسية المفسفرة. ويمكن للجلسرالدهيد ٣ - فوسفات دخول دورة الجلوكزة.

تم تخليقه؛ مثل إنزيمى *aconitase* و *isocitrate dehydrogenase*؛ وذلك بالمقارنة بمرحلة نمو الفطر وتكوين كتلته الحيوية *fungal biomass*.

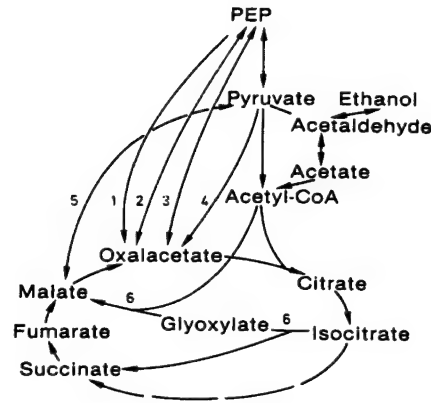
ويلاحظ أن إنتاج حمض الستريك يتم بعد أن يستكمل الفطر نموه فى البيئة الغذائية؛ مستهلكاً جزءاً من الجلوكوز فى تكوين نمواتٍ ميسليومية بدرجة كافية، ولكن عند تغيير ظروف البيئة لدفع الفطر لتكوين حمض الستريك دون استهلاكه، فإن الفطر يكون جراثيمه تحت هذه الظروف.

وفى مرحلة تكوين جراثيم الفطر يتراكم الجلوسرول فى الميسليوم، حتى يصل إلى تركيز عالٍ يشبط عنده إنزيم *isocitrate dehydrogenase* الذى يحتاج فى نشاطه إلى المرافق الإنزيمى *NADP* الحامل للهيدروجين. ويعتبر هذا الإنزيم من إنزيمات الميتوكوندريا؛ وهو يقوم باستهلاك حمض الستريك وتمثيله غذائياً فى حالة نشاط الفطر.

وعند تثبيط هذا الإنزيم، يسلك التمثيل الغذائى للفطر مساراتٍ أخرى مختلفة؛ حتى لا تثبط دورة الأحماض الثلاثية الكربوكسيل خلال مرحلة إنتاج حمض الستريك؛ حيث يطلق على مثل هذه المسارات اسم التفاعلات المساعدة *anaplerotic reactions* (شكل ٤١).

ومن أهم هذه التفاعلات التى يسلكها الفطر *Aspergillus niger* فى تمثيله الغذائى خلال مرحلة إنتاج حمض الستريك؛ ذلك التفاعل الذى يقوم به إنزيم *pyruvate carboxylase*؛ حيث يعمل على تحويل البيروفات وثانى أكسيد الكربون إلى أوكسال حمض الخليك *oxalacetate* فى وجود *ATP*.

ويحتاج التفاعل السابق إلى أيونات المغنسيوم والبوتاسيوم، بينما لا يحتاج إلى أستيل المرافق الإنزيمى أ (*Acetyl CoA*). ويعتبر إنزيم *pyruvate carboxylase* من الإنزيمات الأساسية فى إنتاج حمض الستريك.



- | | |
|-----------------------------------|-------------------------|
| 1. PEP Carboxylase | 4. Pyruvate carboxylase |
| 2. PEP Carboxykinase | 5. Malate enzyme |
| 3. PEP Carboxytrans-phosphorylase | 6. Glyoxylate cycle |

شكل (٤١) التفاعلات المساعدة المرتبطة بدورة الأحماض الثلاثة الكربوكسيل.

وبالإضافة إلى الإنزيم السابق، هناك إنزيم آخر من الإنزيمات المساعدة؛ وهو إنزيم **phosphoenol pyruvate carboxykinase** الذي يحول فوسفول اينول بيروفات (PEP) وثاني أكسيد الكربون إلى أوكسال حمض الخليك **oxalacetate** في وجود **ADP** التي تتحول إلى مركب عالي الطاقة **ATP**. ويحتاج هذا الإنزيم في نشاطه إلى أيونات المغنسيوم أو المنجنيز أو البوتاسيوم أو الأمونيوم.

وتلعب تركيزات الأيونات السابقة دوراً هاماً في تكوين حمض الستريك في البيئة الغذائية التي ينمو فيها الفطر خلال مرحلة التخمر؛ وذلك من خلال تأثيرها الحيوى على نشاط الإنزيمات المحددة للمسارات المختلفة للدورات الحيوية التي يسلكها الفطر

خلال تمثيله الغذائي؛ فعلى سبيل المثال تؤدي زيادة أيونات الأمونيوم في بيئة النمو إلى تثبيط إنزيم isocitrate dehydrogenase، بينما يعمل ذلك على تشجيع نشاط إنزيم phosphophenol pyruvate carboxykinase.

وهناك تفاعلات مساعدة أخرى يلجأ إليها الفطر *A.niger* في تمثيله الغذائي؛ وذلك عند توافر الخللات أو المركبات الأليفاتية الطويلة مثل الألكانات (والتي تحتوي على عدد من ذرات الكربون يتراوح بين ٩ ذرات و ٢٣ ذرة) كمصدر للكربون في البيئة الغذائية التي ينمو فيها.

ومن هذه التفاعلات ما يقوم به إنزيم phosphoenol pyruvate carboxytrans- phosphorylase؛ الذي يقوم بتحويل فوسفو اينول بيروفات إلى أوكسال حمض الخليك.

ج- إنتاج حمض الستريك صناعياً:

عند نمو الميسليوم الفطري على بيئة النمو السائلة في المرحلة الأولى من إنتاج حمض الستريك، يستهلك الفطر جزءاً من الجلوكوز في بناء مزيد من الهيفات الفطرية والمكونات الحيوية اللازمة لها؛ حتى يغطي النمو سطح البيئة - في حالة التخمر السطحي - أو تتكون كتلة حيوية biomass - في التخمر العميق - تكفي لإنتاج حمض الستريك.

فإذا ما كَوّن الفطر هذه الكتلة الحيوية المناسبة من النموات الميسليومية، بدأت المرحلة الثانية التي يتم خلالها تحويل المتبقى من الجلوكوز في بيئة النمو إلى حمض ستريك، بينما يفقد جزء يسير من الجلوكوز خلال هذه المرحلة، أقل بكثير مما فقد خلال التنفس في المرحلة الأولى.

ويوضح جدول (١٠) كمية ما يتم إنتاجه من حمض الستريك باتباع تقنية التخمر السطحي أو التخمر العميق، مع ملاحظة أن الإنتاج النظري theoretical yield

من حمض الستريك هو ١٢٣ جرام حمض ستريك مائي أو ١١٢ جرام حمض ستريك لامائي لكل ١٠٠ جرام جلوكوز. ولكن يجب أن يؤخذ في الحسبان عدم إمكانية الحصول على هذا الإنتاج النظري من الناحية العملية؛ وذلك لاستهلاك جزء من الجلوكوز خلال مرحلة نمو ميسليوم الفطر وتكوين كتلته الحيوية، بالإضافة إلى الكمية المستهلكة من الجلوكوز خلال التنفس وإنتاج ثاني أكسيد الكربون.

جدول (١٠) : إنتاج حمض الستريك باستخدام طرق تخمر مختلفة.

نوع الفطر	المادة الخام المستخدمة (% سكروز)	طريقة التخمر	المحصول الحقيقي		أقصى محصول نظري %
			% حجم مادة خام	% حجم مصدر كربون	
<i>A. niger</i>	مولاس بنجر (٥٠ %)	سطحي	٤٢	٨٤	٦٨,٤
<i>A. niger</i>	مولاس بنجر (٥٠ %)	عميق	٤١	٨٢	٦٦,٨
<i>A. niger</i>	مولاس بنجر (٥٤ %)	عميق	٤٦	٨٥	٦٩,٤
خميره	الكان	عميق	١٦٥	٨٢	٦٦,٨
خميره	ميثانول	عميق	٤٠	٤٥	٣٦,٦
خميره	إيثانول	عميق	٦٠	٤٨,٤	٤١,١

وتعتبر تقنية التخمر السطحي **shallow fermentation technology** وتقنية التخمر العميق **deep fermentation technology** الطريقتين المستخدمتين في إنتاج حمض الستريك تجارياً؛ وذلك بإنماء الفطر على بيئة سائلة تحتوي على سكر البنجر، أو مولاس القصب، أو محلول سكر الجلوكوز كمصدر كربوني.

ويلاحظ عند استعمال المولاس في إنتاج حمض الستريك تجارياً تجنب تلوثه بالمعادن الثقيلة؛ حيث يمكن اتباع طريقة التبادل الأيوني **ion exchange** لإزالة هذه المعادن والتخلص منها. وقد تستعمل لهذا الغرض مادة مخلبية **chelating agent**، مثل

مادة الفيروسيانيد ferrocyanide، أو هكساسيانوفيرات الكالسيوم -calcium hexacyanoferate .

وتعتبر عملية إنتاج حمض الستريك بواسطة الفطر *A. niger* حساسة للغاية؛ وذلك لوجود أيونات المانجنيز في البيئة؛ حيث ينخفض معدل الإنتاج بشدة إذا وجدت أيونات هذا العنصر بتركيز ٣ ميكروجرامات لكل مليلتر من البيئة.

لذلك فإنه من اللازم معاملة المولاس - قبل استخدامه كبيئة لإنماء الفطر - ببعض المواد التي تثبط امتصاص هيفات الفطر للمانجنيز؛ مثال ذلك النحاس، أو مادة hexacyanoferrate؛ مما يعوق تأثيره المثبط.

وعلى العكس من ذلك، فإن إنتاج حمض الستريك بواسطة بعض الفطريات الأخرى - بما فيها فطر الخميرة *Candida guilliermondii* - لا يتأثر تأثيراً معاكساً بالمانجنيز؛ ومن ثم فإن المعاملة السابقة بمادة hexacyanoferrate ليست ذات أهمية في مثل هذه الحالات.

* طريقة التخمر السطحي:

خلال عملية التخمر الضحل (السطحي)، ينمو الفطر *A. niger* في صوان مصنوعة من الألومنيوم النقي العالي الجودة؛ يعمق يتراوح بين خمسة سنتيمترات وعشرين سنتيمتراً. وتحفظ مثل هذه الصواني في حجرات معقمة، وتلقح بمزرعة الفطر. وهناك سلالات عديدة من الفطر *A. niger* تستعملها المصانع التجارية لإنتاج حمض الستريك؛ حيث يحتفظ كل مصنع بسرّ نوع السلالة المستخدمة، وكذلك بالتحسينات التي يجريها خلال مراحل الإنتاج.

وحيث إن عملية إنتاج حمض الستريك تجارياً من الصناعات التقليدية، فإن المنافسة على كمية الإنتاج وجودته ترتبط باختيار السلالة المناسبة من الفطر المستخدم، وكذلك بتحسين ظروف الإنتاج وتطوير آلياته.

وينتج من هذه الصناعة كميات كبيرة من النواتج الفطرية؛ بصرف النظر عن الطريقة المستخدمة في إنتاج حمض الستريك؛ وهذا يوضح أن هناك مخلفات تبقى من الإنتاج التجارى لهذا الحمض؛ تتمثل في الكتلة الحيوية *biomass* من النواتج الفطرية، والتي يمكن استخدامها كأسمدة حيوية، أو كمصدر لإنتاج بعض المواد الكيموحيوية.

جدول (١١) : إنتاج الأحماض العضوية بواسطة بعض الخمائر.

(عن Wainwright, 1992)

الانتاج (%)	الحمض	اسم الفطر المستخدم
١٤٠	ستريك citric	١ - الفطر <i>Candida guilliermondii</i>
١٤٠	ستريك citric	٢ - الفطر <i>C. lipolytica</i>
٦٥	ستريك citric	٣ - الفطر <i>C. oleophila</i>
٢٨	L (+) iso citric	٤ - الفطر <i>C. brumptii</i>
٨٤	α - Ketoglutaric	٥ - الفطر <i>C. hydrocarbofumarica</i>
غير محسوبة	جلوكونيك gluconic	٦ - الفطر <i>Aureobasidium pullulans</i>
٣٥	ايتاكونيك itaconic	٧ - الفطر <i>Candida sp.</i>

وعند استخدام المولاس كبيئة لإنماء الفطر عليها، فإنه يتم ضبط رقم حموضتها أولاً إلى رقم حموضة يتراوح بين ٥ - ٧، ويجب أن يزيد رقم الحموضة الأولى درجتين قبل أن تستطيع كونيديات الفطر الإنبات، وبعد ذلك يجب أن يضبط رقم حموضة البيئة إلى أعلى من ٣,٥ خلال مرحلة نمو الفطر، وإلا أنتج الفطر أحماضاً عضوية أخرى؛ مثل حمض الأوكساليك *oxalic*، والجلوكونيك *gluconic*؛ مما يصعب استخلاص وتنقية الناتج النهائي وهو حمض الستريك.

ويعقب عملية إضافة اللقاح الفطري (البادئ) inoculation وضع الصواني على حوامل في حجرة معقمة، حيث يدفع داخلها هواء معقم؛ يمر فوق النموات الفطرية؛ ليوفر لها احتياجاتها من الأكسجين، ولكي يحفظ الحرارة عند ٣٠°م.

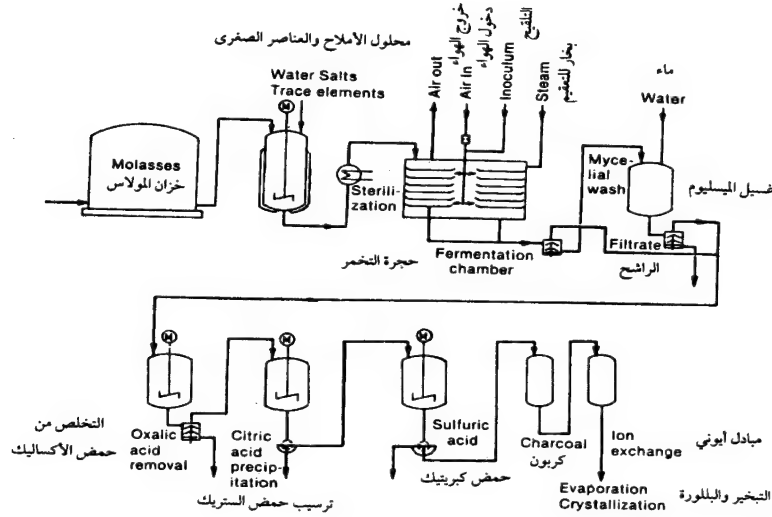
ومن العوامل المؤثرة على إنتاج حمض الستريك بطريقة التخمير السطحي مساحة سطح الصواني المستخدمة في الإنتاج بالنسبة إلى حجم البيئة المستخدمة في تنمية الفطر، وكلما كان المسطح أكبر زاد الانتشار السطحي لنمو الفطر، وزاد تحوّل السكر إلى حمض ستريك بفعل الإنزيمات الداخلية في هيفات الفطر؛ حيث تصل كفاءة الإنتاج إلى نحو ٦٠٪ من كمية السكر المستخدمة في البيئة.

وتتبع طريقة النقل المتتالي للجراثيم الفطرية من البيئة القديمة إلى البيئة الجديدة؛ حيث يشجع ذلك إنتاج الحمض. وعادةً ما تجهز مادة اللقاح الأولى؛ وذلك بتلقيح البيئة الغذائية - ٧٥ مليلتر من بيئة تحتوي على ١٤٪ سكرًا ورقم حموضتها ٢ من دورق زجاجي سعة ٢٥٠ مليلترًا - بجراثيم الفطر، ثم تخزن لمدة عشرة أيام على حرارة ٢٦°م.

وبعد نمو الفطر في الدورق السابق، تُنقل محتوياته إلى دورق آخر أكبر حجمًا، ثم تكرر هذه العملية كل عشرة أيام، ولمدة تصل إلى ثمانية أشهر. وفي هذه المرحلة يكون حجم اللقاح الأولى كافيًا لتلقيح وعاء التخمير في الإنتاج التجاري.

وخلال الأيام القليلة الأولى من مرحلة نمو فطر *A. niger*، تتكون طبقة سميكة من النموات الفطرية (حصيرة ميسليومية) يطلق عليها اسم الكتلة الحيوية الفطرية *gal biomass* تطفو على سطح البيئة السائلة. وفي هذه المرحلة ينخفض رقم حموضة البيئة إلى نحو ١,٥-٢؛ نظرًا لامتصاص هيفات الفطر لأيونات الأمونيا من بيئة النمو، وتكوين حمض الستريك.

ويستمر النمو الفطري حوالي ٨ أيام - ١٤ يوماً، وفي حالات الإنتاج التجاري يبلغ مسطح الإنتاج - في حالة التخمير السطحي - نحو اثني عشر هكتاراً. ويبلغ معدل إنتاج الفطر لحمض الستريك حوالي ١,٢ - ١,٥ كيلو جرام من الحمض لكل متر مربع من سطح البيئة الغذائية في الساعة الواحدة. كما ينتج عن نمو الفطر حرارة تعادل ١٢,٥٠٠ كيلو جول لكل كيلو جرام حمض ستريك منتج.



شكل (٤٢) : إنتاج حمض الستريك بطريقة التخمير السطحي.

وفى اليابان، تتم مراحل إنتاج حمض الستريك باستخدام طبقاتٍ من المخلفات الصلبة للخضروات السابق سلقها، والتي يتم وضعها فى صوانٍ، أو تنثر على أرضية غرف الإنتاج، ثم تلقح بالفطر *A. niger*. وبعد ذلك بـ ٥-٨ أيام يتم استخلاص حمض الستريك المتكون عن طريق معاملة هذه المخلفات النامى عليها الفطر، ثم ترشح المخلفات بعد ذلك.

ولقد استمر إنتاج حمض الستريك بطريقة التخمير السطحي حتى نهاية عام ١٩٤٠، حيث استبدلت بها طريقة التخمير العميق. وفى الطريقة الأخيرة يتم استخدام أوعية مصنوعة من الصلب العالى الجودة غير القابل للصدأ، أو تستخدم أوعية معدنية مغطاة بطبقة من البلاستيك؛ بحيث تكون مقاومة للتآكل بفعل حمض الستريك المفرز بواسطة هيفات الفطر *A. wentii*.

※ طريقة التخمير العميق :

يستخدم فى هذه الطريقة الفطر *A. wentii*، كما استخدمت بعض السلالات التابعة للفطر *A. niger* والتي أعطت إنتاجية عالية من حمض الستريك بطريقة التخمير العميق (طريقة المزرعة المغمورة)؛ حيث يتم إنتاج ٨٠٪ من الإنتاج العالمى لحمض الستريك بهذه الطريقة.

وتختلف السلالات فيما بينها فى كفاءتها الإنتاجية، كما أن الجراثيم الأصغر عمراً أكثر كفاءة فى إنتاجها لحمض الستريك من الجراثيم الأكبر عمراً.

وتلعب ظروف الإنتاج دوراً كبيراً فى نسبة تحول السكر إلى حمض ستريك بفعل إنزيمات الفطر؛ وخاصة التهوية؛ لذلك يتبع تقليب البيئة داخل وعاء التخمير لرفع كفاءة التهوية؛ حيث يستمر ذلك لمدة أربعة أيام؛ وبذلك تصل نسبة تحول السكر إلى حمض ستريك لحوالى ٧٠٪ - ٧٥٪؛ وهى نسبة جيدة تجارياً.

وبعد انتهاء مرحلة الإنتاج، يتم فصل ميسليوم الفطر (الكتلة الحيوية biomass)، ثم يترسب حمض الستريك في صورة سترات كالسيوم، وبعد ذلك يعادل المحلول بحمض كبريتيك مخفف لتكوين راسب من كبريتات الكالسيوم، بينما ينفرد حمض الستريك، وبعد ذلك تجرى تنقيته وبلورته.

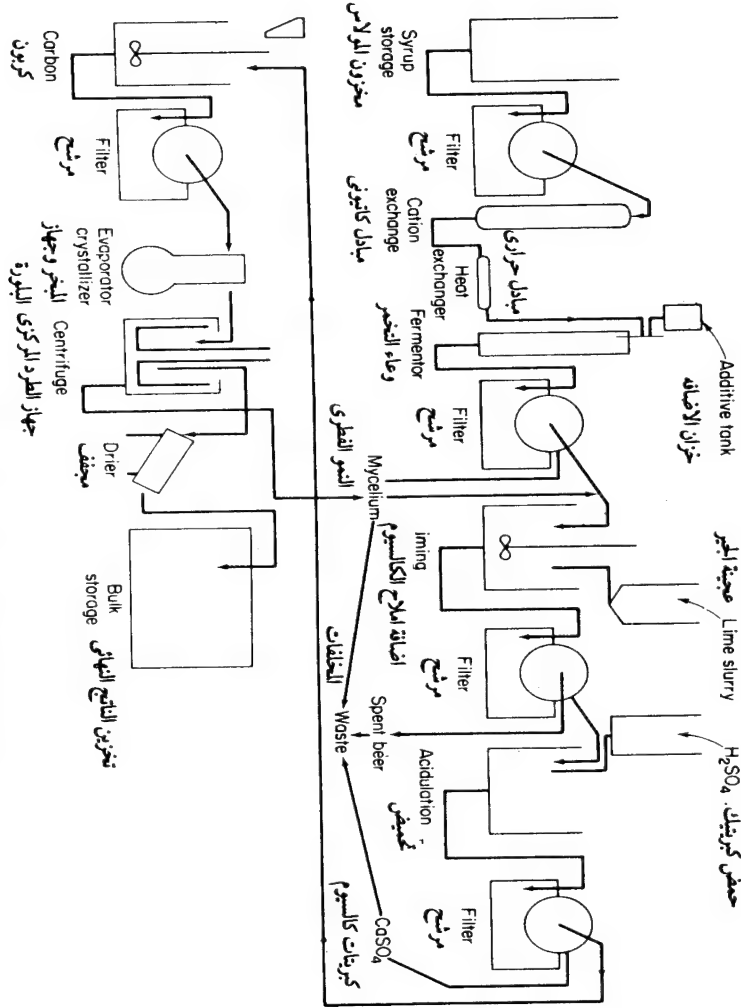
* طرق أخرى للإنتاج :

يمكن استعمال مفاعلات حيوية مهتزة stirred tank reactors لإنتاج حمض الستريك. وفي حالات أخرى يتم الإنتاج عن طريق أبراج التخمر tower fermentors. وتنمو الهيفات الفطرية على صورة كرات صغيرة الحجم، يجب أن يكون قطرها حوالي ملليمتر واحد، حتى تصبح في أقصى كفاءة لها؛ لإنتاج حمض الستريك.

ومن ناحية أخرى، يمكن إنتاج حمض الستريك باتباع تقنية الخلايا المسكنة immobilised cells؛ حيث قام كل من الباحثين Borglum & Morshall من معامل شركة ميلس Miles عام ١٩٨٣ بتسكين هيفات الفطر *A.niger* على كرات من مادة الآجار أو الكارجينانات، ثم إمرار محلول الجلوكوز خلال هذه الكرات. ولقد تم تسجيل براءة اختراع لهذه التقنية الفريدة باسم هذين الباحثين.

ويعتبر إنتاج حمض الستريك حساساً - إلى حد ما - لمستوى الأكسوجين الذائب في بيئة النمو. وعند استعمال البيئات السائلة المعتادة بطريقة التنمية على دفعات batch culture، فإن الإنتاج من هذا الحمض يصل إلى ٩٠٪ من هذه البيئة المستعملة في نمو الفطر، في حين أن استعمال المزارع المستمرة أو نصف المستمرة continuous or semicontinuous cultures في إنتاج حمض الستريك أقل انتشاراً.

ولقد استعملت الخمائر كبديل عن الفطريات الهيفية في إنتاج حمض الستريك؛ حيث تتميز هذه الخمائر بسرعتها في التخمر، بينما تظهر الأنواع المحبة لارتفاع الضغط الأسموزي في البيئة osmophilous species ميزة أخرى في تحملها للتركيزات العالية من السكر في بيئة النمو.



شكل (٤٣) : الإنتاج التجاري لحمض الستريك بطريقة التخمير العميق
(عن Lockwood & Schweigert, 1967).

تابع شكل (٤٣) :

يتم إعداد المواد الخام المستخدمة في الإنتاج التجارى لحمض الستريك وذلك على صورة محلول غذائى يحتوى على ١٥ - ٢٠ ٪ سكروزاً، ثم يتم ترشيح ذلك المحلول، وإمراره على مبادل أيونى لنزع الكاتيونات فيصبح المحلول حامضياً، عندئذ تضاف الأمونيا إليه لرفع رقم الحموضة إلى ٢ - ٤، ويعقم.

يتم تلقيح المحلول المعقم بواسطة جراثيم الفطر *A.niger*، سواء فى صورة جافة أم معلق للجراثيم. ويراعى التهوية المستمرة أثناء مرحلتى التتمة والإنتاج، مع التحكم فى رقم حموضة البيئة بحيث لا يزيد عن ٣,٥، خاصة فى مرحلة الإنتاج حتى لا يتكون حمض الأوكساليك أو حمض الجلوكونيك. وتضاف مواد مانعة للرغوة مثل مادة سوربيتان (Tween) .

وبعد إنتهاء مرحلة الإنتاج يرشح المحلول الغذائى لإستبعاد الكتلة الحيوية للفطر، ثم يضاف أيدروكسيد الكالسيوم لمعادلة حموضة الراشح، وبذلك يمكن الحصول على سترات الكالسيوم المترسبة من خلال ترشيحها.

يفصل راسب سترات الكالسيوم للتخلص من بقايا المحلول الغذائى، ثم ينقل هذا الراسب إلى خزان التخميض حيث يضاف إليه حمض كبريتيك، وبعد ذلك يرشح المحلول للتخلص من كبريتات الكالسيوم المترسبة، بينما يمرر محلول حمض الستريك على فحم لإزالة اللون، ثم يرشح مرة أخرى.

ويركز محلول حمض الستريك الناتج عن طريق تبخيره حتى يصل إلى تركيز ٣٥ - ٤٠ بوميه (وحدة قياس التركيز فى المحاليل)، وبعد ذلك يتم بلورته على حرارة ٣٦,٦°م. وفى النهاية تجمع البلورات وتطرد مركزياً، ثم تجفف وتعبأ.

وعلى الرغم من هذه المميزات الهامة التى تبديها الخمائر فى إنتاج حمض الستريك، إلا أنها تبدى تغيراتٍ فجائيةً فى سلوكها؛ حيث تنتج هذه الخمائر

جدول (١٧) : مقارنة بين بعض طرق إنتاج حمض الستريك صناعيا (عن Ward, 1990).

طرق التخمير	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>	طرق التخمير
نوع التخمير	مرزعة عميقة في خزان مقلب حجمه ٤٠ - ٢٠٠ متر مكعب.	مرزعة سطحية العمق مرزعة ٢,٢ - ١,٥ متر.	مرزعة عميقة في خزان مقلب حجمه ٤٠ - ٢٠٠ متر مكعب.	نوع التخمير
نوع اللقاح في رعاء الإنتاج	لقاح ميسليوري محضر في مخمر مبدئي أو نلقح مباشر بمعلق جرثومي (كوبدي).	كوبديات في معلق حجمه حوالي ١٥٠ ملل (٢ × ١٠٠ كوبدا/ متر مكعب).	لقاح ميسليوري محضر في مخمر مبدئي .	نوع اللقاح في رعاء الإنتاج
رقم حموضة التخمير	يبدأ برقم حموضة ٥ - ٧ لنمو ونجور ثم الفطر <i>A. niger</i> ثم يخفض رقم الحموضة إلى ٢ لإنتاج حمض الستريك.	يبدأ برقم حموضة ٥ - ٧ لنمو ونجور ثم الفطر <i>A. niger</i> ثم يخفض رقم الحموضة إلى ٢ لإنتاج حمض الستريك.	يبدأ برقم حموضة ٤,٥ - ٦,٥ للنمو ثم يخفض إلى ٢,٥ لإنتاج حمض الستريك.	رقم حموضة التخمير
درجة الحرارة	٢٠°	٢٠°	٢٥ - ٢٧°	درجة الحرارة

التجربة	دفع هواء وتبريد	٠,٥ - ١ حجم هواء/ وحدة حجم بيعة/ دقيقة. الأكسجين ١٤٠ ٢ ملليار. (النخمر حساس جدا للأكسجين)	٠,٥ - ١ حجم هواء/ وحدة حجم بيعة/ دقيقة. ضغط الأكسجين ١٤٠ ٢ ملليار. (النخمر حساس جدا للأكسجين)	٠,٥ - ١ حجم هواء/ وحدة حجم بيعة/ دقيقة.
البيعة	١٥٠ كجم/ متر مكعب	١٤٠ - ٢٢٠ كجم/ متر مكعب	٧٨٠ كجم/ متر مكعب.	لا تحتاج إلى معاملات لخفض المعادن. خفض التبرجين يؤدي إلى تراكم الحمض. يحتاج البياض لزيادة تراكم الحمض.
المعاملات المبدئية للبيعة احتياجات أخرى	يجب أن يكون تركيز النخمر منخفضاً وتحتاج البيعة إلى معاملة مبدئية بواسطة هكسا سيانوفورات أو أملاح النحاس أيونات الأمونيوم تساعد على زيادة إنتاج الحمض الميلنوم. المفطري في صورة كريات pellets.			

نسبة عالية من حمض الأيزوستريك isocitrate على حساب إنتاج حمض الستريك قد تصل إلى نحو ٥٠٪؛ وهذه النسبة أعلى بكثير مما تنتجه الفطريات الهيفية *filamentous fungi* مثل الفطر *A. niger*.

وبالإضافة إلى ما سبق، أمكن إنتاج حمض الستريك من الالكانات *n-alkanes* باستعمال أنواع عديدة من فطر الخميرة *Candida*، وخاصةً *C. lipolytica*. ويؤدي نمو هذه الخميرة على مثل هذه المادة العالية الاختزال إلى تكوين محصول يصل إلى ٢٥٠٪ من حمض الستريك من الناحية النظرية، بينما لا تزيد النسبة المتكونة فعلياً على ١٧٥٪.

ويعتمد تحسين إنتاج حمض الستريك على استعمال مواد جديدة لإنماء الفطريات عليها واستخدام سلالات أكثر كفاءة على إنتاج هذا الحمض؛ فعلى سبيل المثال استخدم الباحثان Xu and Hang (1988) تفال التفاح *apple pomace* فى إنماء الفطر *A. niger* عن طريق تخمر المواد الصلبة *solid state fermentation*؛ وذلك فى وعاء متحرك دوار *rotating drum fermentor* لإنتاج حمض الستريك.

د - العوامل المؤثرة على إنتاج حمض الستريك:

* السلالات الفطرية:

يمكن لكثير من الفطريات إنتاج حمض الستريك كأحد نواتج التمثيل الغذائى الأولية؛ مثال ذلك الفطريات *Aspergillus niger*، و *A. clavatus*، و *Penicillium* *lu-teum*، و *P. citrinum*، و *Mucor piriformis* ولكن بدرجات متفاوتة.

إلا أن بعض سلالات هذه الفطريات قادرة على إنتاج كميات تجارية من حمض الستريك؛ مثل تلك التابعة للفطر *A. niger*؛ لذلك فإنها تستخدم بنجاح فى هذه الصناعة الهامة. وعادة ما يتم انتخاب أفضل هذه السلالات التى تتميز بكفاءة عالية فى إنتاج كمية كبيرة من حمض الستريك العالى الجودة.

* رقم الحموضة:

يناسب إنتاج حمض الستريك انخفاض رقم حموضة البيئة الغذائية التي ينمو فيها الفطر، والتي تصل إلى ٢,٠٠. وعلى أية حال يتراوح رقم الحموضة المناسب لإنتاج هذا الحمض بين ١,٦-٢,٢، ولكن عند ارتفاع رقم الحموضة إلى ٤-٥، يؤدي ذلك إلى انخفاض إنتاج حمض الستريك انخفاضاً معنوياً، وينتج حمض الأوكساليك بدلاً منه.

كما يؤدي عدم انخفاض رقم الحموضة إلى الدرجة المناسبة إلى زيادة نشاط إنزيم *aconitase*؛ مما يؤدي إلى انخفاض تراكم حمض الستريك في البيئة. وفي بعض الحالات يمكن استخدام خميرة *Candida aleophila* لإنتاج هذا الحمض؛ وذلك بتنميتها على بيئة غذائية عند رقم حموضة مرتفع نسبياً؛ يتراوح بين ٤ و ٧.

* درجة الحرارة:

تتوقف درجة الحرارة المناسبة على نوع الفطر المستخدم، وطريقة الإنتاج، ونوع البيئة الغذائية. وعادة ما تتراوح درجة الحرارة المستخدمة بين ٢٢٥ و ٢٣٥، بينما تعتبر درجة الحرارة ٢٢٦ - ٢٢٨ هي الدرجة المثلى.

ويؤدي ارتفاع درجات الحرارة لأكثر من ٢٣٠ إلى اتجاه التفاعل الحيوي لإنتاج حمض الأوكساليك بدلاً من الستريك، كما يزداد تأثير أيونات المعادن على إنتاج حمض الستريك بارتفاع درجة الحرارة.

* تأثير مصدر الكربون:

يمكن استخدام عديد من المواد العضوية لإنماء الفطر المناسب وإنتاج حمض الستريك. ويعتبر سكر المالتوز أفضل من السكروز لإنتاج هذا الحمض، بينما السكروز أفضل من السكريات الخماسية والسداسية الأخرى التي تعتبر غير ملائمة لإنتاج حمض الستريك. كما يعتبر تركيز السكر من العوامل الهامة المؤثرة على الإنتاج؛ حيث وجد أن أفضل إنتاج كان عند استخدام محلول بيئة غذائية تحتوي على تركيز ١٢,٥-١٥ جرام سكر في اللتر.

* تأثير مصدر النتروجين والأملاح المعدنية :

تحتاج عملية إنتاج حمض الستريك حيويًا بواسطة الفطريات إلى مصدر نيتروجيني، بالإضافة إلى عديد من العناصر؛ مثل: البوتاسيوم، والفوسفور، والكبريت، والمغنسيوم بكميات كافية، وعلى صورة أملاح ذائبة في بيئة نمو الفطر.

ويعتبر الببتون أفضل مصدر نيتروجيني مناسب لإنماء الفطر *Aspergillus niger*، تليه أملاح النتрат؛ مثل: نترات الماغنسيوم، ونترات الصوديوم، ونترات الأمونيوم؛ على الترتيب.

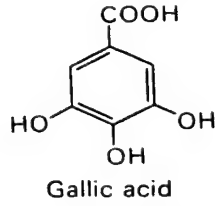
* تأثير العناصر الصفري :

تؤثر إضافة المنجنيز والحديد والنحاس على إنتاج حمض الستريك؛ فعلى سبيل المثال وجد أن إضافة سيانيد الحديد على المولاس المستخدم لتنمية فطر *A. niger* تؤدي إلى زيادة الكفاءة الإنتاجية لحمض الستريك بنسبة ٣,٥٪.

كما أدى توفر المنجنيز والنحاس والزنك والحديد في بيئة النمو كل على حدة وتركيزات ٠,٠١ و ٠,٠٢٥ و ٠,٥ و ١ جزء في المليون إلى زيادة إنتاج حمض الستريك في بيئة النمو.

٢- إنتاج حمض الجاليك :

يتكون حمض الجاليك *gallic acid* من الجالوتانين *gallotannin*؛ وذلك عن طريق فعل إنزيم التحليل المائي *tannase*. ويستعمل هذا الحمض بصورة رئيسية في صناعة أحبار الطباعة، وفي دباغة الجلود، وفي علاج البواسير.



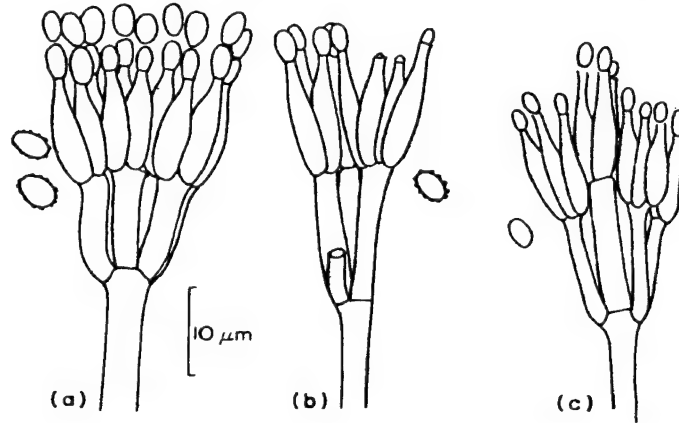
شكل (٤٤) : التركيب الكيميائي لحمض الجاليك .

ويتم إنتاج هذا الحمض عن طريق تعريض كومات نبات العفص *gallnuts* إلى رطوبة عالية؛ حيث تنمو عليها هيفات الفطريات متخللة جزيئات هذه الكومة، مكونة حمض الجالليك خلال شهر أو نحو ذلك.

وتعتبر هذه الطريقة من الطرق القديمة المألوفة في إنتاج هذا الحمض، إلا أن هناك طرقاً أخرى حديثة تستخدم حالياً في الإنتاج التجاري، تتبع خلالها طرق التخمر الصناعي؛ باستعمال بعض سلالات الفطر *A. niger* أو سلالات الفطر *Penicillium chrysogenum*.

٣- إنتاج حمض الجلوكونيك:

يعتبر حمض الجلوكونيك *gluconic acid* شائع الاستخدام في النواحي الطبية كمادة منخفضة الطاقة *diet supplement* في صورة أملاح كالسيوم أو بوتاسيوم أو



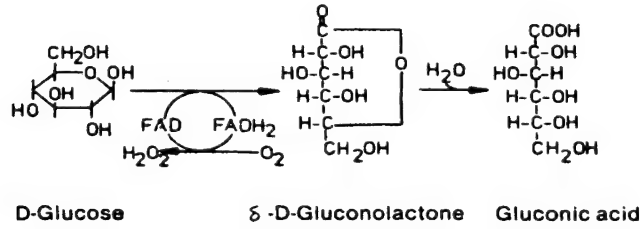
شكل (٤٥): الفطر *Penicillium purpurogenum*.

رءوس كونيدية متفرع منها قارورات *phialides* نحيفة متوازية. (a)، (b) كونيديات ذات جدار خشن. (c) كونيديات ملساء (*P. rubrum*).

زنك. وأيضاً تعتبر مادة جلوكونات الكالسيوم من أهم مصادر الكالسيوم في غذاء الأطفال والسيدات الحوامل، ويستعمل في إعداد بدائل الألبان في الأبقار. كما يستخدم هذا الحمض بكثرة في تجهيز المنظفات الصناعية.

وينتج هذا الحمض - بصورة أساسية - باستعمال بعض سلالات الفطر *A. niger* خلال مراحل تخمر البيئة السائلة بالطريقة المغمورة *submerged fermentation process*. ومن الفطريات الأخرى التي لها القدرة على إنتاج حمض الجلوكونيك الفطر *Penicillium chrysogenum* والفطر *P. purpurogenum* وبعض سلالات الفطر *Pul-lularia pullulans* وبعض أنواع الجنس *Moraxella*؛ وذلك باستخدام الجلوكوز كمصدر كربوني.

ويتم تكوين حمض الجلوكونيك عن طريق أكسدة الجلوكوز بواسطة إنزيم *glu-cose oxidase* خلال مرحلة التخمر بطريقة مباشرة، ولكن يجب أن يكون رقم حموضة البيئة ٦-٧. ويوضح شكل (٤٦) إنتاج حمض الجلوكونيك من الجلوكوز.



شكل (٤٦) : إنتاج حمض الجلوكونيك من الجلوكوز.

١- طرق الإنتاج:

هناك عديد من الطرق المستخدمة فى الإنتاج الصناعى لهذا الحمض؛ منها طريقة التخمير السطحي فى الصوانى *shallow-pan method*، وطريقة التخمير العميق *submerged mould growth*، وطريقة الأسطوانات الدوارة *rotary drum method*.

ويمكن إنتاج حمض الجلوكونيك بطريقة الخلايا الساكنة أو الإنزيمات الساكنة؛ حيث تصل الإنتاجية إلى نحو ٩٣٪ فى وجود الأكسوجين النقى. وفى هذه التقنية يتم تسكين ميسليوم الفطر *A. niger* أو إنزيمات جلوكوز أكسيداز *glucose oxidase* والكتاليز *catalase* على دعائم *supports* من الكربون النشط أو من سبيكة مكونة من النيكل والسيليكا والألومينا *nickel-silica - alumina* أو من الخزف.

ويتم حجز هيفات الفطر - أو الإنزيمات التى سبقت الإشارة إليها - فى مادة هلامية من البولى اكريلاميد *polyacrylamide*، أو من مادة *2-hydroxyethyl me-thacrylate*. ويجب أن يؤخذ فى الحسبان متابعة نشاط إنزيم الكتاليز؛ وذلك للتخلص من فوق أكسيد الهيدروجين الناتج من التفاعل.

ويوضح جدول (١٣) كفاءة إنتاج حمض الجلوكونيك باستعمال طرق مختلفة وفطريات مختلفة.

ويتم تجهيز مادة لقاح الفطر المستخدم كما هو متبع فى إنتاج حمض الستريك؛ وذلك باستخدام سلالات محددة من الفطر *A. niger*، أو من الفطر *P. chrysogenum*. ويعتمد الإنتاج التجارى لحمض الجلوكونيك على طريقة التخمير السطحي أو العميق، إلا أن طريقة التخمير العميق ينتج عنها كمية كبيرة من الحمض فى فترة قصيرة. ويتم إنتاج حمض الجلوكونيك فى صورتين: جلوكونات الكالسيوم، وجلوكونات الصوديوم.

جدول (١٣) : كفاءة الطرق والفطريات المختلفة
فى إنتاج حمض الجلوكونيك صناعيًا

نوع الفطر	الطريقة المستخدمة	نوع وعاء التخمير	المدة اللازمة (يوم)	كفاءة الإنتاج (%)
<i>Penicillium luteum</i>	تخمير سطحي	صوان ألومنيوم	١١	٥٧,٤
<i>P. chrysogenum</i>	تخمير عميق	دوارق زجاجية ثابتة	٨	٨٠,٤
<i>P.chrysogenum</i>	تخمير عميق مع التقليب	دوارق زجاجية مهتزة	٢,٢	٨٠

ب- إنتاج جلوكونات الكالسيوم:

تنتج جلوكونات الكالسيوم باستعمال طريقة التخمير العميق، ثم تتم عملية تعادل الحمض الناتج عن طريق ملح كربونات الكالسيوم. ويزداد معدل التخمير بارتفاع معدل التهوية، مع تقليب البيئة التى ينمو عليها الفطر فى خزان التخمير.

ويصل معدل إذابة جلوكونات الكالسيوم فى محلول البيئة الغذائية إلى حوالى ٤ جرامات لكل لتر، وذلك عند حرارة ٣٠°م، بينما يزداد معدل الإذابة إلى أكثر من ٢٠ جراماً لكل لتر عندما ترتفع درجة حرارة البيئة إلى ١٠٠°م.

لذا يجب ألا تحتوى بيئة النمو على أكثر من ١٣-١٥ ٪ جلوكوزاً؛ لأن زيادة تركيز الجلوكوز فى البيئة عن ذلك يؤدى إلى زيادة تكوين جلوكونات الكالسيوم؛ مما يؤدى إلى بلورتها فى البيئة وصعوبة فصلها وتنقيتها بعد ذلك.

ونتيجة لأن عملية التخمير تعتمد على الأكسوجين، فقد وجد أن زيادة الضغط تؤدى إلى زيادة ذوبان الأكسوجين.

ويوضح جدول (١٤) تأثير الزيادة في الضغط أثناء التخمر على الزيادة في معدل إنتاجية حمض الجلوكونيك.

جدول (١٤) : العلاقة بين إنتاجية حمض الجلوكونيك والضغط

الضغط (بار)	الإنتاجية (بالوزن)
١	٤٢,٥
٣	٨٠,٤
٤	٨٢,٤
٥	٨٣,١
٦	٨٦,١

ج- إنتاج جلوكونات الصوديوم:

يشيع استخدام جلوكونات الصوديوم في كثير من النواحي الغذائية والعلاجية أكثر من جلوكونات الكالسيوم. وتتميز جلوكونات الصوديوم بمعدل ذوبانها العالي الذي يصل إلى ٣٩٦ جرام/لتر.

ولإنتاج جلوكونات الصوديوم تجارياً تستخدم - عادة - بيئة مكونة مما يلي: جلوكوز تجارى (٢٤٠-٣٨٢ جراماً)، مخلفات صناعة النشا من الذرة (٣,٧ جراماً)، يوريا (٠,١ جراماً)، فوسفات ماغنسيوم (٠,١٧ جراماً)، فوسفات بوتاسيوم (٠,٢ جراماً)، فوسفات أمونيوم (٠,٤ جراماً) لكل لتر بيئة.

ويتم ضبط رقم الحموضة بعد تعقيم البيئة؛ حيث يجب أن يكون عند ٦,٥، ثم يضاف اللقاح الفطري الأولى (البادىء). وتجب المحافظة على رقم حموضة البيئة خلال مرحلة نمو الفطر؛ حيث يتم التحضين عند حرارة ٣٣-٣٤°م. وبصفة عامة

يتم إنتاج حمض الجلوكونيك في وجود مصدر تروجيني ومصدر فوسفوري كعامل محدد للنمو.

ويسترجع حمض الجلوكونيك من جلوكونات الصوديوم أو الكالسيوم؛ وذلك عن طريقة إضافة حمض الكبريتيك إلى البيئة الغذائية للقطر بعد استكمال فترة التحضين، مع رفع درجة الحرارة؛ حيث يؤدي ذلك إلى ترسيب كبريتات الكالسيوم، والتي تفصل بالترشيح. بعد ذلك يتم تركيز الراشح حتى يصل إلى نصف حجمه، ثم يفصل الحمض باستخدام طريقة التبادل الأيوني ion exchange resins.

د - إنتاج دلتا جلوكونو لاكتون:

تتم بلورة الجلوكونو دلتالاكتون gluconodeltalacton من محاليل فوق مشبعة لحمض الجلوكونيك؛ وذلك بوضع بللورات من الحمض في المحلول المشبع على حرارة ٣٠-٣٧٠ لمدة حوالي ١٨ ساعة.

ويجب الاحتفاظ بدرجة الحرارة في هذا المدى خلال مرحلة التبلور؛ حيث إن انخفاض درجة الحرارة لأقل من ٣٠ يؤدي إلى تبلور حمض الجلوكونيك، بينما يؤدي ارتفاع الحرارة إلى أعلى من ٣٧٠ إلى بلورة جلوكونو جاما لاكتون. وبعد انتهاء بلورة الجلوكونو دلتا لاكتون يتم فصل هذه البلورات وتجفيفها عند حرارة ٤٧-٤٨. وتتميز هذه البلورات بأنها بيضاء اللون ونقطة انصهارها عند ١٥٣.

هـ - استخدامات حمض الجلوكونيك ومشتقاته:

- * تستخدم جلوكونات الكالسيوم وجلوكونات الحديدوز في تصنيع الأدوية المستخدمة لعلاج نقص الكالسيوم والحديد.
- * يستخدم دلتا جلوكونولاكتون في صناعة مساحيق الخبز Baking powder.
- * يستخدم حمض الجلوكونيك في مصانع الألبان كمنظف؛ ليمنع تكوين أحجار

- * الألبان milk stones، كما يدخل في صناعة مركبات تنظيف مصانع الأغذية في وجود الصودا الكاوية؛ نظراً لعدم تسببه في تآكل الأوعية المصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ، وأيضاً الأوعية والوصلات المصنوعة من النحاس أو الألومنيوم.
- * يستخدم حمض الجلوكونيك في صناعة أحبار الطباعة ودباغة الجلود، وصناعة أفلام التصوير الحساسة للضوء.
- * تستخدم جلوكونات الصوديوم في مخاليط صناعة الأسمنت.
- * يستخدم حمض الجلوكونيك في إزالة صدأ الحديد القلوى.
- * تستخدم دلتا جلوكونو لاكتون كمادةٍ لخفض رقم حموضة كثير من عمليات التصنيع الغذائي، وخاصة صناعة الجبن.

٤- إنتاج حمض الإيتاكونيك Itaconic acid:

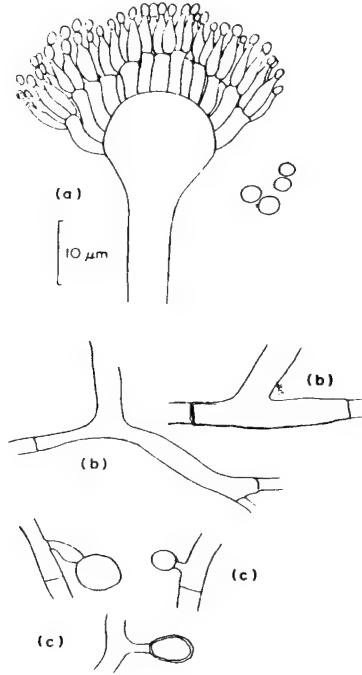
يعتبر (Kinoshita 1931) أول من قام باكتشاف هذا الحمض؛ حيث وصف إنتاجه باستعمال الفطر *Aspergillus itaconicus*. وبعد ذلك بعدة سنوات، وجد Callam (1939) أن الفطر *A. terreus* أفضل من الفطر السابق في إنتاج حمض الإيتاكونيك. ومازال الفطر *A. terreus* يستخدم في إنتاج هذا الحمض حتى الآن، إلا أن عدد المصانع التي تنتجه قليل نسبياً على مستوى العالم، برغم أهمية هذا الحمض في عديدٍ من الأنشطة الإنسانية. ومن أهم الشركات المنتجة لحمض الإيتاكونيك: شركة فايزر بالولايات المتحدة، وشركة ساندويتش Sandwich بالإنجلترا، وشركة Iwata باليابان، بالإضافة إلى مصنع واحدٍ بروسيا.

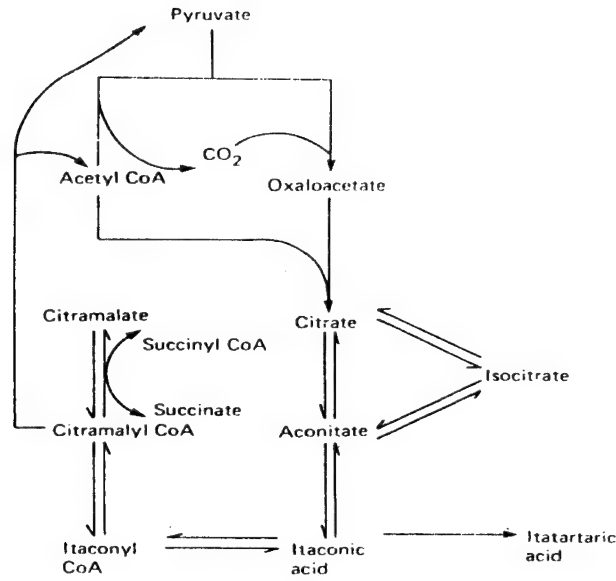
ويستخدم حمض الإيتاكونيك في إنتاج المركبات المعقدة polymers التي تستخدم في صناعة الورق - خاصة ورق الحائط - وكذلك في إنتاج المواد اللاصقة والبويات، وأيضاً في صناعة معقد الأكريلونتريل acrylonitrile المستخدم في صناعة كثير من الألياف الصناعية، وفي صناعة السجاد.

وبالإضافة إلى ماسبق، يدخل حمض الايتاكونيك في صناعاتٍ أخرى عديدة؛ مثل صناعة بعض الصبغات والراتنجات الصناعية *resins*، والمواد الثقيلة القوام *thickening agents*، وأيضاً في تجهيز أحبار الطباعة.

ويتم تخليق حمض الايتاكونيك من خلال دورة الأحماض الثلاثية الكربوكسيل، وذلك بواسطة نزع مجموعة الاكونيتات. وقد يتم تخليق هذا الحمض من البيروفات عبر حمض ستراماليك *citramalic* (شكل ٤٨).

شكل (٤٧) : الفطر *Aspergillus terreus*.
(a) - الرأس الكونيدى *conidial head*
وكونيديات *conidia*.
(b) - خلية القدم *foot cell*.
(c) - خلايا من الميسليوم القاعدى.





شكل (٤٨) : عمليات تخليق حمض الإيتاكونيك.

وبلاحظ من الشكل السابق أن حمض السكسينيك succinic acid وحمض إيتاطرطريك itatartaric acid من النواتج الثانوية غير المرغوبة؛ لذلك تضاف أملاح الكالسيوم إلى بيئة نمو الفطر؛ وذلك لتنشيط إنزيم الأكسدة itaconic oxidase؛ الذي يعمل على تكوين حمض إيتاطرطريك.

وتتشابه طرق إنتاج حمض الإيتاكونيك مع الطرق المستخدمة في إنتاج حمض الستريك، فيما عدا نوع الفطر المستخدم في الإنتاج. كما تلعب النسبة بين أيونات الزنك والنحاس في بيئة نمو الفطر دوراً هاماً في إنتاج حمض الإيتاكونيك.

ومعظم إنتاج هذا الحمض يتم باتباع تقنية التخمير العميق؛ وذلك في أوعية متحركة مصنوعة من صلب غير قابل للصدأ. ويستعمل الجلوكوز أو السكروز كمادة غذائية لإنماء الفطر. ويصل أقصى نشاط للفطر *A. terreus* عند رقم حموضة ٢.

وتستخدم بيئة تحتوي على المولاس وأملاح الأمونيوم، أو المحلول المتخلف عن صناعة نشا الذرة *corn-steep liquor* كمصدر للكربون والنيتروجين لإنماء الفطر وإنتاج حمض الإيتاكونيك.

ويتراوح أفضل رقم حموضة لنمو الفطر من -٥ إلى -٧، بينما ينخفض رقم الحموضة المناسب لإنتاج حمض الإيتاكونيك إلى ٣-٤. ويتم الحصول على كمية من هذا الحمض تعادل ٥٥-٦٥٪ من كمية الكربوهيدرات المستخدمة في بيئة النمو.

ويجب أن يكون تركيز السكر في بداية عملية التخمير ١٠٠ - ١٨٠ جرام لكل لتر بيئة؛ حيث تستغرق عملية التخمير لإنتاج الحمض نحو ٧٢ ساعة. ويجب مراعاة التهوية الجيدة خلال هذه المرحلة؛ حيث تؤدي التهوية السيئة إلى تثبيط الإنتاج.

وعلى الرغم من أن أكثر الطرق المستخدمة في إنتاج حمض الإيتاكونيك هي تقنية التخمير العميق، إلا أنه أمكن إنتاج هذا الحمض عن طريق تقنية الخلايا الساكنة؛ حيث وصل الإنتاج إلى ٧٣. جراماً من الحمض لكل لتر بيئة في الساعة باتباع هذه التقنية.

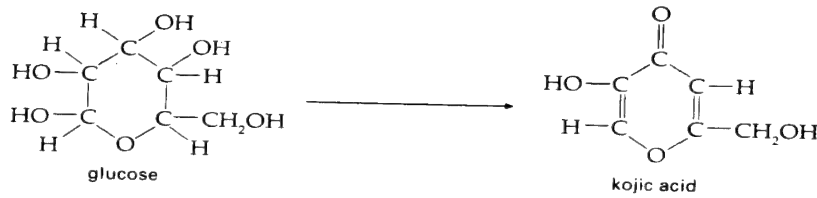
كما قام Kobayashi (1967) بإنتاج هذا الحمض باتباع تقنية التنمية بالطريقة المستمرة *continuous culture* لمدة ١٤ يوماً. ولقد أظهرت النتائج أن الإنتاج بهذه التقنية اقتصادي في تكاليفه؛ حيث تمثل التكاليف الإجمالية حوالي ٨١٪ من تكاليف التنمية على دفعات *batch culture*.

ويتم الحصول على حمض الإيتاكونيك عن طريق ترشيح نواتج التخمر في محلول البيئة؛ حيث يتم استبعاد النموات الفطرية (الكتلة الحيوية)، ثم يتم التخلص من لون البيئة بواسطة الفحم النشط، وبعد ذلك يتم ترشيح الناتج، وتبخره مع التقليب المستمر؛ لإعطاء فرصة لتكوين بلورات حمض الإيتاكونيك. ويتم - عادة - إعادة البلورة مرة أخرى بعد التخفيف؛ للحصول على الحمض في صورة نقية.

٥- إنتاج حمض الكوجيك Kojic acid:

حمض الكوجيك عبارة عن 5-hydroxy - 2 hydroxymethyl - 4 - pyrone وهو يستخدم كمادة إضافية في صناعة البلاستيك، وكذلك في صناعة الورق، وفي صناعة المالتول Maltol؛ كمادة محسنة للنكهة.

وينتج هذا الحمض بالتخمر المباشر للجلوكوز باستخدام الفطر *Aspergillus flavus* أو الفطر *A. oryzae*؛ تبعاً للمعادلة التالية:



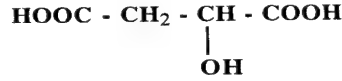
شكل (٤٩) : إنتاج حمض الكوجيك من الجلوكوز.

وتتشابه ظروف إنتاج حمض الكوجيك مع ظروف إنتاج حمض الستريك أو حمض الإيتاكونيك، إلا أن إنتاج حمض الكوجيك يقابله مشاكل في عملية التنقية.

ويرجع ذلك إلى أن أية آثار لأيونات الحديد في بيئة النمو - حتى لو كانت ١,٠ جزءاً في المليون - تكون كافية لتغيير اللون الأحمر الجميل المميز لهذا الحمض.

٦- إنتاج حمض المالك Malic acid:

حمض المالك عبارة عن hydroxy butane dioic وتركيبه كالتالي:



شكل (٥٠): تركيب حمض المالك.

ويتم إنتاج حمض المالك عن طريق بلورته من المحلول المائي في صورة حمض لامائي؛ حيث تقوم شركة Kyowa Hakko Kogyo اليابانية باستعمال أنواع من الفطر *Aspergillus* (مثل: *A. parasiticus*، *A. flavus*، و *A. oryzae*) في إنتاج حمض المالك من الجلوكوز، وتبلغ كفاءة الإنتاج نحو ٥٨٪ من الجلوكوز الموجود في البيئة.

ويستخدم الفطر *A. wentii* في إنتاج حمض المالك في شركة Chemische Werke Hüls الألمانية؛ وذلك بإنماء هذا الفطر على بيئة غذائية تحتوي على أملاح معدنية وسكروز وحمض الفيوماريك (١٢٥ جراماً / اللتر). وبعد تعقيم البيئة وتلقيحها بالنموات الفطرية، يتم تخزينها لمدة ثلاثة أيام، وبعد ذلك يتم الحصول على حمض المالك المتكون بمعدل ١٣٢ جراماً لكل لتر بيئة.

ويتم الحصول على حمض المالك بترسيبه من البيئة الغذائية بعد انتهاء عملية التخمير؛ وذلك بإضافة أحد أملاح الكالسيوم. وبعد ذلك تعاد إذابة بلورات مالات الكالسيوم المترسبة بواسطة حمض الكبريتيك للتخلص من أملاح الكالسيوم، ثم ييخر المحلول؛ فتتكون بلورات حمض المالك التي يتم تجفيفها.

ويعتبر حمض المالك من المواد المستخدمة في صناعة عصائر الفاكهة، وبعض المشروبات غير الكحولية. كما يستخدم هذا الحمض في صناعة المياه الغازية.

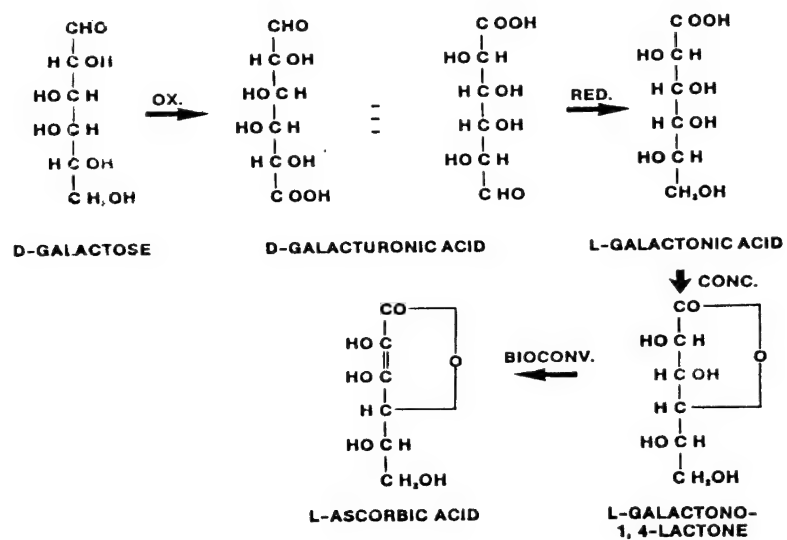
٧- إنتاج حمض الأسكوربيك *L. ascorbic acid* :

يعتبر حمض الأسكوربيك - أو فيتامين C - من المركبات الهامة غذائياً وطبياً؛ حيث يستخدم كمادة مضادة للأكسدة، ولتثبيت لون اللحوم، وكمادة مضادة لنمو الميكروبات، وكمعادلات للحموضة *acidulant*، وكمادة محسنة للطعم، بالإضافة إلى قيمتها الغذائية العظيمة.

وينتشر حمض الأسكوربيك في كثير من المواد الطبيعية، سواء أكانت نباتية أم حيوانية. إلا أن معظم الإنتاج التجاري له يتم عن طريق التحولات الكيميائية من الجلوكوز، إلا أنه يمكن إنتاجه من الكائنات الحية الدقيقة.

فعلى سبيل المثال، يمكن إنتاج حمض الأسكوربيك من سكر السوربوز باستخدام بكتيريا *Acetobacter suboxydans*، وأيضاً تستخدم بعض أنواع الخمائر مثل *Candi-da norvegensis* في إنتاج هذا الحمض.

ولقد سجل مجموعة الباحثين *Cayle et al. (1986)* براءة اختراع لإنتاج حمض الأسكوربيك بواسطة خميرة *Candida norvegensis* من الجلكتوز؛ حيث تتم أكسدة الجلكتوز كيميائياً إلى *L. galactono-1,4-lactone*، ثم تقوم الخميرة بأكسدة المركب الأخير في وجود الأكسجين؛ حيث يتكون حمض الأسكوربيك كما هو موضح في شكل (٥١).



شكل (٥١) : إنتاج حمض الأسكوربيك من الجالكتوز بواسطة فطر الخميرة *Candida norvegensis*.

ثانياً: دور الخمائر فى إنتاج الأحماض العضوية.

استعملت الفطريات الهيفية *filamentous fungi* فى الطرق التقليدية لإنتاج الأحماض العضوية، كما استخدمت فطريات الخمائر *yeast fungi* فى نفس الغرض ولكن بدرجة أقل.

ولقد كان للخمائر النصيب الأكبر فى الإنتاج الصناعى للأحماض العضوية؛ وذلك منذ نهاية ستينيات هذا القرن، حينما تم استخدام فطر الخميرة *Candida lipolytica* لإنتاج كميات ضخمة من حمض الستريك؛ وذلك باستخدام مركبات البارافينات *n-paraffins* كبيئة لإنمائها؛ مما أحدث ثورة فى الإنتاج التجارى لحمض الستريك.

ولا يعتبر ما سبقت الإشارة إليه مثيراً للدهشة، وذلك إذا وضعنا فى الحسبان أن ما ينتج من حمض الستريك باستعمال الخمائر يصل إلى ضعف ما يمكن إنتاجه باستعمال الفطر *Aspergillus niger*.

إلا أنه من سوء الحظ، أدى الارتفاع المتزايد فى أسعار البترول - وكذلك المخاوف من أن إنتاج حمض الستريك من المواد البارافينية قد يكون ملوثاً بمخلفات مسرطنة - إلى صرف النظر عن استمرار العمل فى مجال إنتاج هذا الحمض من مشتقات البترول. ومع ذلك استعملت الخمائر فى إنتاج أحماض عضوية متنوعة - غير حمض الستريك - ولكن كانت عادةً على نطاق ضيق.

فعلى سبيل المثال، استخدم فطر الخميرة *Torulopsis candida* فى إنتاج حمض البراسيليك *brassylic acid* المستخدم فى صناعة العطور، وفى إنتاج حمض السيباسيك

sebacic acid المستخدم في صناعة النيلون، بينما استخدمت الخمائر *Saccharomy*، *gluconic*، *Aureobasidium pullulans* و *copsis sp.* في إنتاج حمض الجلوكونيك، وتم إنتاج حمض الفيوماريك *fumaric acid* باستخدام *Candida hydrocarbofu-* و *marica* وإنتاج حمض المالك *malic acid* باستخدام فطر الخميرة *Candida utilis*.

ثالثاً: إنتاج الكحولات الصناعية :

تلعب الخمائر دوراً بارزاً في إنتاج الكحولات المستخدمة في الصناعة، وخاصةً كحول الإيثانول ethanol؛ حيث يعتبر هذا الكحول أكثر المواد المنتجة عن طريق التخمير الفطري؛ وذلك من الناحيتين الكمية والقيمة التجارية.

١- إنتاج كحول الإيثانول :

هناك عديد من الفطريات المختلفة التي يمكنها النمو على بيماتٍ غذائيةٍ متباينةٍ لإنتاج كحول الإيثانول (جدول ١٥).

جدول (١٥) : إنتاج كحول الإيثانول بواسطة بعض فطريات الخمائر باستخدام بعض المواد العضوية (عن Wainwright, 1992).

نوع الإنتاج	اسم الخميرة المستخدمة	نوع المادة العضوية	الإنتاج (جرام / لتر)
تجاري	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	مولاس قصب السكر (البرازيل)	٦٩
		حبوب الذرة	٦٩
تجريبى	<i>Candida tropicalis</i>	هيميسيليوز محلل مائيا	١٤,٣
	<i>C. wickerhamii</i>	سيلوبيوز	٤٤
	<i>Kluyveromyces marxianus</i>	عصير القصب (عند ٤١ م°)	٨
	<i>Pachysolen tannophilus</i>	زيلوز	١٣,٥
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	قش محلل مائيا	٧٠
	<i>S. cerevisiae</i>	زيلوز + إنزيم xylose isomerase	١١٠

١- العوامل المؤثرة على إنتاج الإيثانول:

* اختيار سلالة الخميرة:

يراعى عند اختيار سلالة الخميرة المستخدمة فى إنتاج كحول الإيثانول صناعياً أن تتميز بكفاءة إنتاجية عالية، وأن تكون ثابتة الصفات ولا تكون طفرات. وكذلك أن تحتفظ بحيويتها لفترة طويلة، سواء أكانت محفوظة فى صورة طازجة أم مجففة، مع تحملها التركيزات العالية من السكر أو الكحول الناتج.

وتستخدم - عادةً - سلالات من فطريات الخميرة المختلفة فى إنتاج كحول الإيثانول؛ حيث قسمت هذه السلالات - من ناحية تحملها للتركيزات العالية من الكحول الناتج من التخمر - إلى أربعة أقسام:

خمائر ضعيفة التحمل للغاية: يمكن لهذه السلالات من الخميرة تخمير ٧٧,٢٪ فقط من السكريات القابلة للتخمر فى ٢٤ ساعة عند حرارة ٣٠°م. ويجب أن تتراوح نسبة الجلوكوز فى بيئة النمو بين ١,٥ و ١٠٪؛ حيث تنمو عند رقم حموضة ٤,٣-٤,٤؛ مثال ذلك خميرة *Willia anomala* التى تستخدم فى صناعة البيرة باليونان؛ حيث ينتج عن نموها ٤,٨٪ كحولاً فى البيئة.

خمائر ضعيفة التحمل: وتتميز هذه السلالات بتحملها النوعى للتركيزات العالية من الكحول؛ حيث يمكنها تحويل ٩٥,٨٪ من الجلوكوز الموجود فى بيئة النمو إلى كحول إيثانول؛ منتجةً ٦,٧٪ كحولاً فى البيئة، كما هى الحال فى خميرة الخباز *Saccharomyces cerevisiae*.

خمائر متوسطة التحمل: وهى مناسبة للإنتاج الصناعى لكحول الإيثانول؛ حيث يمكنها تحويل ٩٧,٩٪ من الجلوكوز الموجود فى البيئة إلى إيثانول، منتجةً نسبةً من الكحول تتراوح بين ٨,٥٦٪ و ٩,٥٢٪؛ مثال ذلك خميرة *Saccharomyces elliposideus*.

خمائر عالية التحمل: ويمكن لهذه الخمائر تحويل نسبة عالية من الجلو كوز الموجود فى البيئة إلى كحول إيثانول، مشابهةً فى ذلك الخمائر متوسطة التحمل للتركيزات العالية من كحول الإيثانول، منتجةً نسبةً عاليةً من الكحول فى البيئة، تتراوح بين ١٠,٤٧٪ و ١٠,٦١٪ كحول إيثانول، كما هى الحال فى بعض الخمائر الحمراء.

*** تجهيز مادة اللقاح (الباديه):**

تستخدم لذلك سلالات من الخميرة ذات كفاءة عالية فى إنتاج الإيثانول. ويجب تنشيط الخميرة بواسطة إنمائها لمراتٍ متتاليةٍ فى محلول التخمر؛ وذلك على حرارة مناسبة (٢٥م-٣٠م)؛ حتى يمكن الحصول على لقاح أوليٍّ من الخلايا النشطة تكفى لتلقيح ٤ لترات من بيئة التخمر.

بعد ذلك يستخدم اللقاح المنشط السابق فى تلقيح وعاء التخمر التجارى؛ والذى يسع نحو ٥٠-٢٠٠ متر مكعب، مع مراعاة تعقيم وعاء التخمر والبيئة المستخدمة فى تغذية فطر الخميرة قبل إضافة اللقاح.

*** المادة الخام المستخدمة:**

تستخدم عديد من المواد الخام المحتوية على نسبةٍ من السكريات القابلة للتخمر بفعل فطر الخميرة؛ حتى ينتج عن ذلك التخمر كحول الإيثانول. وتختلف هذه المواد الخام المستخدمة لذلك الغرض؛ حيث يمكن استخدام مواد نشوية مثل القمح والشعير والبطاطس، أو مواد سيليلوزية مثل الخشب ومخلفات صناعة الورق، وأيضاً المواد السكرية مثل المخلفات السائلة الناتجة من صناعة السكر من قصب السكر أو بنجر السكر، والتي تعرف باسم المولاس.

ويلعب تركيز السكر دوراً كبيراً فى كفاءة عملية التخمر وإنتاج كحول الإيثانول؛

حيث تتراوح نسبة السكر فى المحاليل المستخدمة تجارياً فى إنتاج الكحول بين ١٠٪ و ١٨٪، والتركيز المعتاد استخدامه هو ١٢٪.

وتجب مراعاة عدم ارتفاع نسبة السكر فى محلول بيئة التغذية لأكثر من ١٨٪، حتى لا يكون له تأثير عكسى على الكفاءة الإنتاجية؛ نظراً لتأثيره المشبط على خلايا الخميرة، بالإضافة إلى زيادة المدة اللازمة لإتمام عملية التخمير. كما أن استخدام محلول من البيئة الغذائية المحتوية على نسبة سكرٍ تقل عن ١٠٪ يعتبر غير اقتصادي.

* إضافة عناصر غذائية:

على الرغم من احتواء المولاس على معظم العناصر الغذائية اللازمة للتخمير وإنتاج كحول الإيثانول، إلا أن أملاح الأمونيوم تضاف - فى صورة كبريتات أمونيوم أو فوسفات أمونيوم - إلى محلول بيئة التخمير كمصدر للنيتروجين والفوسفور؛ حيث يتوقف ذلك على تركيب المولاس.

* رقم حموضة البيئة:

يعتبر رقم حموضة ٤-٤,٥ ملائماً لاستكمال تخمر البيئة الغذائية بفعل فطر الخميرة لإنتاج كحول الإيثانول، كما أن هذا الوسط الحامض يشبط نمو البكتيريا؛ مما يحد من تلوث محلول التخمير بها.

وعند استخدام كمية كبيرة من مادة اللقاح الأولى (البادىء) من الخميرة النشطة، فإنه - تحت هذه الظروف - يمكن الاستغناء عن عمليات التعقيم فى المراحل النهائية من الإنتاج؛ مما يقلل من التكلفة الإنتاجية.

ولكن يجب أن يؤخذ فى الحسبان عدم زيادة مادة اللقاح أو خفض رقم الحموضة لبيئة التخمير لأكثر من اللازم؛ حتى لا يؤدي ذلك إلى تكوين منتجاتٍ أخرى غير مرغوبة؛ مثل الجليسرول، بدلاً من تكوين كحول الإيثانول.

*** التهوية:**

تحتاج المراحل الأولى من إنتاج اللقاح الأولى (البادىء) لفطر الخميرة إلى تهوية كافية لتكوين خلايا جديدة (كتلة حيوية biomass)؛ لذلك يجب دفع هواء معقم بمعدل مناسب في هذه المرحلة، بينما لا يحتاج إنتاج الإيثانول إلى تهوية؛ حيث يتم ذلك في ظروف لا هوائية.

*** درجة الحرارة:**

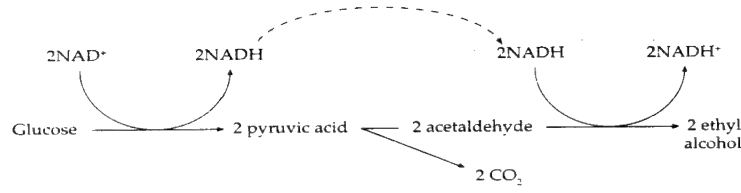
تقع درجة الحرارة الملائمة لإنتاج كحول الإيثانول بين ٢١° و ٢٧°، ويجب مراعاة عدم ارتفاع درجة الحرارة خلال عملية التخمير؛ ولذلك يتبع - عادة - تبريد وعاء التخمير بواسطة مرور مواسير يمر بها ماء بارد، تتخلل محلول التخمير. ويؤدي ارتفاع درجة الحرارة في بيئة التخمير إلى تطاير كحول الإيثانول، كما تنمو البكتيريا الملوثة لبيئة التخمير تحت هذه الظروف.

*** الوقت اللازم للتخمير:**

تستغرق عملية التخمير وإنتاج كحول الإيثانول نحو ٥٠ ساعة عادةً، وربما أقل من ذلك تبعاً لنوع الطريقة المستخدمة في الإنتاج، ودرجة الحرارة، وتركيز السكر في بيئة التخمير المستعملة.

ب- آلية إنتاج كحول الإيثانول:

تجرى عملية التخمير في ظروف لاهوائية؛ حيث تستهلك خلايا الخميرة الأكسوجين الذائب في بيئة التخمير، وبعد ذلك يبدأ تكوين الكحول بفعل خلايا الخميرة على النحو التالي:



ج- تنقية كحول الإيثانول:

تعتبر هذه المرحلة هي آخر مرحلة في إنتاج كحول الإيثانول صناعياً. وتجري هذه المرحلة في وحدات التقطير؛ حيث يفصل الإيثانول عن بقية محتويات البيئة. وبعد الانتهاء من أول مرحلة للتقطير يصل تركيز الكحول إلى ٦٠٪-٩٠٪.

ويمكن استكمال عمليات التقطير حتى يصل تركيز الكحول إلى نحو ٩٥٪؛ وذلك عن طريق إمراره على وحدات التكرير والتكثيف. وقد تجرى عمليات إزالة للماء dehydration؛ للحصول على الكحول المطلق.

د - الإنتاج الصناعي للإيثانول:

يعتبر إنتاج كحول الإيثانول النقي - والذي يطلق عليه اسم جاسوهول gasohol - من أفضل الأمثلة التي يمكن الإشارة إليها لإنتاج الكحول الصناعي على نطاق واسع. فعلى سبيل المثال، تنتج البرازيل الجاسوهول عن طريق تخمير سكر القصب؛ باستعمال فطريات الخميرة؛ حيث يستخدم هذا الكحول كوقود للسيارات. وهناك أمثلة أخرى لإنتاج الإيثانول تجارياً ولكن على نطاق محدود في الولايات المتحدة؛ حيث يستخدم لذلك نشا الذرة كمادة غذائية لإنماء الفطر.

ومن ناحية أخرى تستخدم مخلفات صناعة الورق spent sulphite liquor على نطاقٍ محدودٍ لإنتاج الكحول الصناعي، وأيضاً لإنتاج البروتين الميكروبي single-cell protein الذى يطلق عليه اسم بروتين التوريولا Torula protein .

ومن المواد الأخرى البديلة المستخدمة فى إنتاج الكحول المواد الليجنوسيليلوزية، وكذلك شرش اللبن، ومخلفات تصنيع البطاطس. ولقد ساعد اكتشاف أن الخميرة *Pachysolen tannophilus* يمكنها تخمير مادة D-xylose إلى كحول إيثانول على الاستخدام الكامل للمخلفات العضوية النباتية كمادة منتجة للكحول بعد تخميرها.

ولقد بدأت الخبرة البرازيلية فى إنتاج الكحول كرد فعلٍ لأزمات البترول خلال سبعينيات هذا القرن، عندما بدأت الحكومة برنامجاً لتحويل قصب السكر إلى كحول؛ للاستخدام الصناعي، وكذلك كوقود للسيارات. وبدأ هذا البرنامج بتحسين إنتاج قصب السكر فى الحقل؛ حتى تم التوصل إلى إنتاج محصولٍ يتراوح بين ٧٥ طنًا و ١٠٠ طنٍ للهكتار؛ حيث كان هذا الإنتاج مرتفعاً بدرجةٍ تكفى للإنتاج الاقتصادى للكحول.

وفى عام ١٩٨٢، زاد استعمال الكحول كوقودٍ للسيارات فى البرازيل أربعة أضعاف، وانخفض استيراد البترول بنسبة ٣٠٪، وكان من المثير للدهشة أن هذا الإنتاج المرتفع من الكحول - عن طريق التخمير - لم يصاحبه أى تقدم معنويٍّ فى تطوير سلالات الفطر المستخدم فى عملية التخمير، أو فى تقنية التخمير نفسها. وبدلاً من ذلك اعتمد إنتاج كحول الإيثانول فى البرازيل على استعمال خميرة الخبز التجارية commercial baker's yeast والتقنية المعتادة.

ويبدو أن إنتاج كحول الإيثانول فى البرازيل سوف يستمر معتمداً على قصب السكر كمادةٍ لإنماء الفطر، بينما هناك جهود فى أبحاثٍ حديثةٍ موجهة لاستعمال دقيق المنيهوت (الكسافا) manioc meal والخشب فى التخمير لإنتاج هذا الكحول.

ولقد أمكن تطوير التخمر المباشر للمخلفات السيليلوزية باستخدام بعض الفطريات المحللة للسيليلوز مثل الفطر *Monilia*. وهناك نسبة قليلة نسبياً من الفطريات الهيفية التي يمكنها تخمير قش النجيليات مباشرة إلى إيثانول، إلا أن هناك فطريات تشذ عن هذه القاعدة؛ مثال ذلك بعض سلالات الفطر *Fusarium oxysporum* التي يمكنها القيام بذلك؛ منتجة كحول الإيثانول.

وهناك كحولات أخرى تنتجها الخمائر؛ مثل كحول الايزوبوتيل *isobutyl*، والإيزوأميل *isoamyl*؛ حيث تستعمل مشتقاتها مع الخلطات *acetate derivatives* لإضفاء نكهة الفاكهة على بعض المشروبات الكحولية.

٢- إنتاج الكحولات العديدة الهيدروكسيل *Polyhydric alcohols* :

هناك بعض أنواع الخمائر التي تتميز بقدرتها على إنتاج كحولات عديدة الهيدروكسيل؛ مثال ذلك كحولات الجليسرول، والاريثرول، والارابيتول، والمانيتول، والزيليتول (جدول ١٦).

وتتميز هذه الخمائر بتحملها للآسموزية العالية *osmotolerant*؛ حيث إن معظم هذه الكحولات العديدة الهيدروكسيل عبارة عن نواتج لعمليات التمثيل الغذائي عن طريق دورة الجلوكوز (Embden - Meyerhof pathway) ودورة السكريات الخماسية المفسفرة *pentose phosphate pathway*.

وتستخدم الكحولات العديدة الهيدروكسيل في صناعة المحليات الصناعية؛ مثل الارابيتول، والمانيتول، والمالتيتول، والاريثرول، بينما يستخدم الجليسرول على نطاق واسع في إنتاج المواد الراتنجية التخليقية *synthetic resins*، وفي صناعة الأدوية، ومستحضرات التجميل، ومعاجين الأسنان، وصناعة الصابون، وأيضاً في صناعة المفرقات.

وعلى الرغم من هذه الاستخدامات المتعددة للكحولات العديدة الهيدروكسيل في

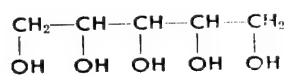
مختلف الصناعات الهامة، إلا أن التنافس في إنتاج الجليسرول - وغيره من هذه الكحوليات - وإنتاجه بالطرق الكيميائية، قلل من إنتاجه بواسطة الفطريات؛ نظراً لارتفاع تكاليفها نسبياً.

إلا أنه في السنوات الأخيرة عاد الاهتمام بإنتاج هذه الكحوليات عن طريق التخمرات الفطرية؛ لأسباب تتعلق بصحة الإنسان، وأيضاً لارتفاع أسعار المواد الخام المستخدمة في التخليق الكيميائي.

ويستخدم في إنتاج الكحوليات العديدة الهيدروكسيل أنواع من الخمائر المتحملة للآسموزية العالية؛ حيث إنها تخلق هذه الكحوليات داخل الخلية؛ لتوازن الضغط الأسموزي العالي الموجود خارج الخلية، والناجم من وجود تركيزات عالية من الأملاح الذائبة.

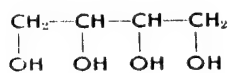
جدول (١٦) : إنتاج الكحوليات العديدة الهيدروكسيل polyhydric alcohols بواسطة فطريات الخمائر (عن Spencer and Spencer, 1978)

نوع فطر الخميرة	نوع الكحول
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>S. bailii</i> <i>S. rouxii</i> <i>Torulopsis magnoliae</i> <i>Pichia farinosa</i>	١ - جليسرول Glycerol
<i>Endomycopsis capsularis</i> <i>E. chodattii</i>	٢ - أرابيتول Arabitol
<i>Candida zeylanoides</i> <i>Trichosporonoides oedocephalis</i>	٣ - إريثريتول Erythritol
<i>Candida lipolytica</i>	٤ - مانيتول Mannitol



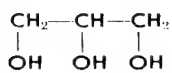
d- Arabitol

د. ارايتول



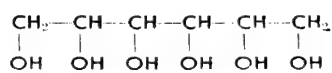
Erythritol

ارثريتول



Glycerol

جليسول



Mannitol

مانيتول

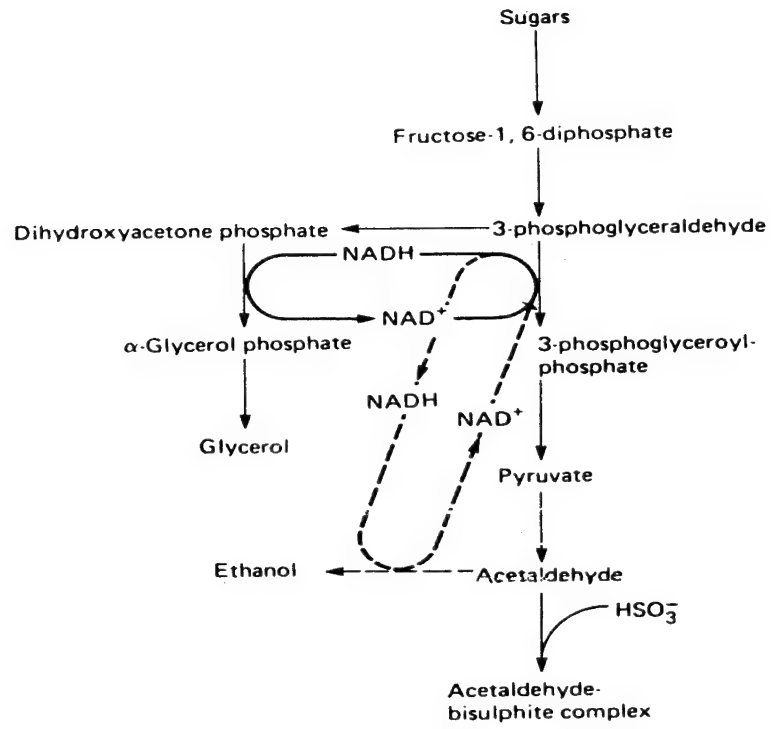
شكل (٥٢) : التركيب الكيميائي لبعض الكحولات العديدة الهيدروكسيل.

وبناءً على ما سبق، تتم تنمية خلايا الخميرة في بيئة تحتوي على تركيز عالٍ من الأملاح الذائبة؛ حتى تتكون بداخلها الكحولات العديدة الهيدروكسيل بكمية كافية، ثم تنقل خلايا الخميرة بعد ذلك إلى بيئة غذائية ذات تركيز منخفض من الأملاح؛ وبذلك يمكن الحصول على الكحول العديد الهيدروكسيل - مثل الجليسرول - وتتم تنقيته بعد ذلك.

وتستخدم - عادةً - بعض السكريات في بيئة تغذية الفطر؛ مثل المالتوز، والجلوكوز، والسكروز، والفراكتوز. وعند نمو أحد فطريات الخميرة في مثل هذه البيئة الغذائية - مثل فطر الخميرة *S. rouxii* - يتكون الجليسرول والارابينيتول *arabinitol* من سكر المالتوز والجلوكوز، بينما تنمو الخميرة *Torulopsis magnoliae* على السكر منتجاً كحول الجليسرول.

كما يمكن لفطر الخميرة *Endomycopsis bortonii* تحويل السكر إلى ارابينيتول، بينما تتشابه الخميرة *Pichia farinosa* مع الخميرة *S. rouxii* في قدرتها على إنتاج الكحولات العديدة الهيدروكسيل من الجلوكوز.

ومن ناحية أخرى يمكن لفطر الخميرة *Candida lipolytica* إنتاج المانيتول من مركبات الألكان ذات السلاسل المستقيمة *n - alkanes*، بينما تنمو خميرة *Candida zeylanoides* على مركبات الألكان السابقة، وتكوّن منها كحول الإريثريتول *erythritol* عديد الهيدروكسيل.



شكل (٥٣) : إنتاج الجليسرول عن طريق التخمر الفطري.

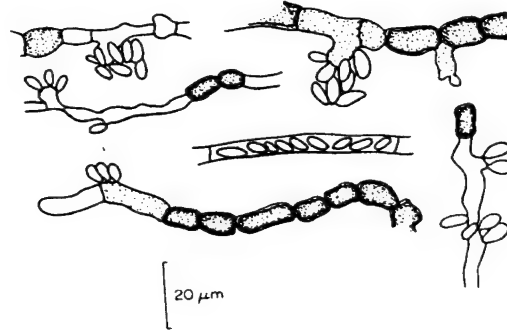
رابعاً: إنتاج السكريات المعقدة Polysaccharides :

يزداد استعمال السكريات المعقدة ذات المنشأ الميكروبي باطراد؛ وذلك فى صناعة كثير من المستحضرات الطبية، وأيضاً فى بعض الصناعات الغذائية؛ وذلك لإنتاج المواد الهلامية التى تعمل على زيادة قوام بعض المنتجات الغذائية، أو تجعلها أكثر صلابة.

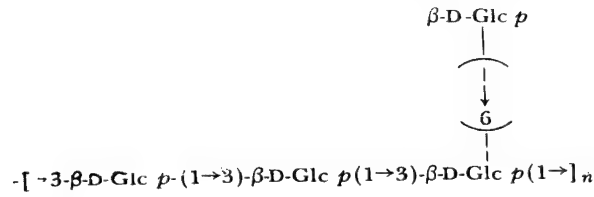
وهناك نوعان من السكريات المعقدة التى يتم تكوينها عن طريق بعض الفطريات؛ هما السكليريوجلوكان scleroglucan، والبليولان pullulan؛ حيث يتم استخدامهما فى بعض المجالات السابقة على نطاق تجاريّ.

ويعتبر السكليريوجلوكان معقداً من وحدات الجلوكوز التى ترتبط - بعضها ببعض - برابطة جليكوزيدية من النوع بيتا ١,٣، وأحياناً من النوع بيتا ١,٦ (B-glucan). ويتم إنتاج هذا السكر المعقد بواسطة الفطر *Sclerotium gluconicum*، والفطر *S. rolfii* والفطر *S. delphinii* بالإضافة إلى بعض الأنواع التابعة للجنس *Helotium*.

وعلى العكس من ذلك، يتكون البليولان من وحدات الفا ١,٤ - glu- (1-4) α can، ويتم تكوينه عن طريق الفطر *Aureobasidium pullulans* الشبيه بالخميرة. وينمو هذا الفطر على صورة تجمع بين صفات الفطريات الهيفية والخمائر الحقيقية. ولا يعتبر البليولان جزيئاً مفرداً، ولكنه معقد كبير الحجم، ذو وزن جزيئى متغير. ويتميز هذا المركب بلزوجته العالية عند إذابته فى الماء، كما أن له قدرة التصاق عالية، بالإضافة إلى عدم سميته.



شكل (٥٤) : الفطر *Aureobasidium pullulans*

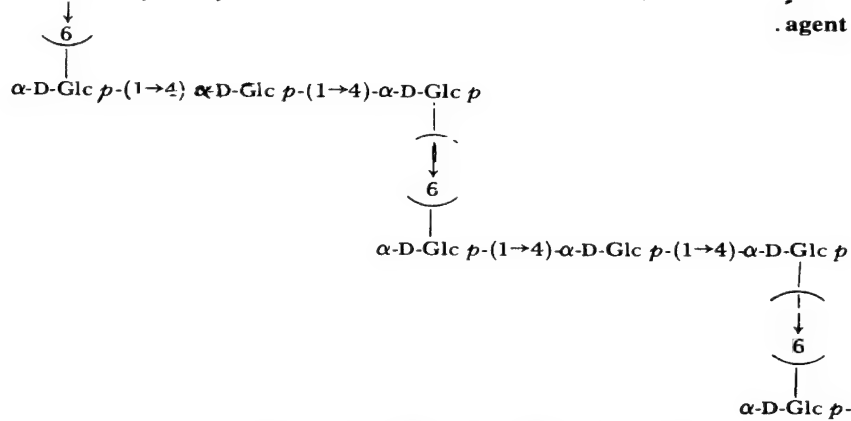


شكل (٥٥) : وحدات متكررة من التركيب البنائي للسكريوجلوكان المنتج بواسطة الفطر *Sclerotium gluconicum*

ويستعمل البليولان تجارياً في اليابان لإنتاج المواد المغلفة للعبوات الغذائية. وتصل أقصى إنتاجية لهذا السكر المعقد عند رقم حموضة عالية في البيئة الغذائية، والتي تعمل على تشجيع نشاط الفطر *A. pullulans*.

وهناك مواد أخرى تكونها بعض الفطريات، تستعمل كمواد لاصقة قابلة للذوبان في الماء؛ مثال ذلك مادة فوسفومانانات *phosphomannans* التي يكونها فطر الخميرة من الجنس *Hansenula*. وبالإضافة إلى ما سبق، فإن بعض أنواع الأجناس *Pachyso-* *extracellular* *Hansenula* و *Pichia* و *len* تنتج مانانات مفسفرة خارج خلاياها

phosphorylated mannans، تتميز بمقاومتها لفعل الأحياء الدقيقة؛ حيث تستعمل كمادة تزيد من قوام المحاليل، أو تعمل على تصلبها، أو كمادة ناشرة dispersing agent.



شكل (٥٦) : التركيب البنائي للبوليلولان Pullulan.

ويعتبر الليفان Levan مركباً معقداً طبيعياً يتكون من سكر الفركتوز؛ حيث يتكون كنتاج ثانوي غير مرغوب فيه خلال مراحل إنتاج عصير الفاكهة. ويستفاد من الليفان في إنتاج مواد تزيد من القوام thickeners، ومواد لاصقة صناعية industrial gums، ومواد محلية sweeteners، بالإضافة إلى بعض الاستعمالات الطبية، حيث يستعمل الليفان كمادة مضافة لبلازما الدم blood plasma extenders.

ولمادة الليفان نواح تطبيقية عديدة في مجال التصنيع الغذائي وتصنيع المستحضرات الصيدلانية وصناعة مواد التجميل وأحبار الطباعة، كما أنه يعتبر بديلاً للصمغ العربي. وينتج الليفان بواسطة عديد من أنواع البكتيريا وفطريات الخمائر، بالإضافة إلى بعض الفطريات الهيفية؛ مثال ذلك فطريات *Aspergillus sydowii* و *A. versicolor*.

خامساً: إنتاج الشيتوسان عن طريق التخمر:

يعتبر الشيتين *chitin* مادة غير قابلة للذوبان؛ لذا فهي لم تستخدم حتى الآن بطريقة تجارية في الصناعة. وتوجد المشتقات اللاخيلية للشيتين -*deacylated deriva-tive*؛ مثل الشيتوسان *chitosan* في الطبيعة بدرجة قليلة، بينما تستخدم بدرجة كبيرة في الصناعة.

وفي اليابان - على سبيل المثال - يستعمل شيتين هياكل سرطان البحر -*crab shell chitin* سنوياً في إنتاج حوالي مليون كيلو جرام من الشيتوسان الذي يستخدم في تنقية مياه الصرف الصحي؛ وذلك كمواد تجميع المواد العالقة *flocculating agent* والتي تطفو على السطح.

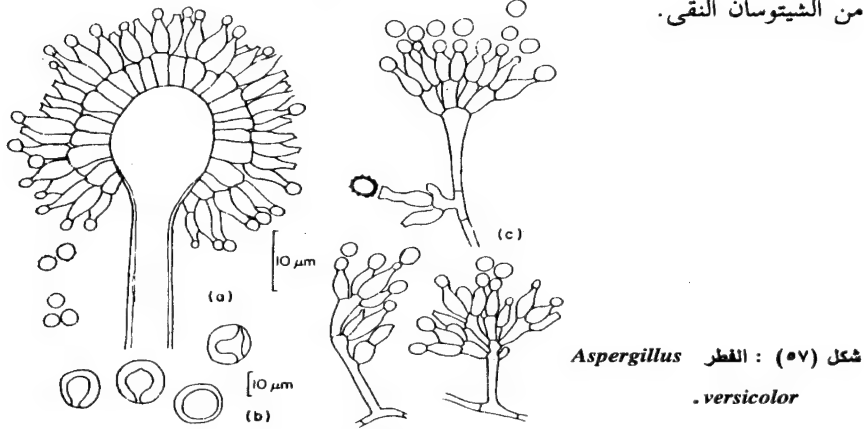
ويستعمل الشيتوسان أيضاً في زيادة كفاءة استخراج زيت البترول الخام من الآبار المستنزفة. ومن الاستخدامات الأخرى للشيتوسان استعماله كمادة غروية للصق الورق، وكمادة مخلبية *chelating agent* للأيونات المعدنية.

وفي الأونة الأخيرة، يعتبر المحار *shellfish* - وهو من الحيوانات المائية الصدفية - المصدر الرئيسي للشيتوسان، إلا أن هذا المصدر متغير وموسمي؛ لذلك يسعى العالم للبحث عن مصدر بديل لإنتاج الشيتوسان؛ متمثلاً في إنتاجه عن طريق التخمر باستعمال بعض الفطريات.

وهناك فطريات تتبع رتبة الميوكوروات *order Mucorales* تحتوي جدرها الخلوية على مركب الشيتوسان؛ مثال ذلك الفطر *Mucor rouxii*، و *Absidia coerulea*. ويمكن إنماء الفطرين السابقين على بيئة تحتوي على المولاس وأملاح الأمونيا عند

رقم حموضة ٤,٥ في وجود غاز الأمونيا؛ حيث يتم الحصول على الشيتوسان قبل أن يصل نمو هذه الفطريات إلى مرحلة متقدمة، وإلا كان من الصعب استخلاص الشيتوسان من جدر الخلايا.

وتتلخص طريقة استخلاص الشيتوسان من جدر خلايا هذه الفطريات في غسل هيفات الفطر؛ للتخلص من آثار البيئة التي كان ينمو فيها، ثم يتم غليانها في محلول ٢٪ هيدروكسيد الصوديوم؛ للتخلص من البروتينات **deproteination**؛ وذلك لمدة ساعة، ثم تعامل بعد ذلك بمادة بوروهيدريد الصوديوم **sodium borohydride** لتثبيت الأكسدة. وعند توفر الظروف المثلى اللازمة للتخمير، تنتج الهيفات الفطرية إنتاجاً جيداً من الشيتوسان النقي.



شكل (٥٧) : الفطر *Aspergillus versicolor*

(a) - كونيديات *conidia* ورأس كونيديّة *conidial head*.

(b) - خلايا مغرّعة *Hülle cells*.

(c) - الفطر *A. sydowii* بدون تكوين الرأس الكونيديّة (مشابه للفطر السابق).

سادساً: إنتاج الإنزيمات الفطرية :

١ - أهمية الانزيمات الفطرية :

تنتج الفطريات أنواعاً متعددة من الإنزيمات المحللة التي تُمكّنها من تحليل عديد من المركبات المعقدة الموجودة في الطبيعة (جدول ١٧). وعلى الرغم من ذلك فإن عدداً قليلاً نسبياً من هذه الإنزيمات هو الذي ينتج على نطاق تجاري؛ فعلى سبيل المثال، ينتج إنزيم *glucose aerohydrogenase* - وهو الإنزيم المسئول عن تحويل الجلوكوز إلى حمض الجلوكونيك *gluconic acid* - كنتاج ثانويّ خلال مراحل إنتاج حمض الجلوكونيك بواسطة الفطر *Aspergillus niger*.

وحيث إن هذا الإنزيم ينتج داخل خلايا الفطر *intracellularly*، فإنه يجب الحصول عليه من الهيفات الفطرية بعد طحنها، ثم الانتظار لفترة حتى يبدأ التحلل الذاتي لها وتحرر الإنزيم. ونتيجة لأن هذا الإنزيم ينتج فوق أكسيد الأيدروجين H_2O_2 الذي له تأثير مضاد للميكروبات، اعتبر من المضادات الحيوية وأطلق عليه اسم *notatin* أو *penicillin B*.

ويضاف إنزيم *glucose aerohydrogenase* إلى البيرة وإلى ثمار الفاكهة المعلبة، وكذلك إلى المشروبات غير الكحولية؛ وذلك بغرض احتفاظها بلونها ونكهتها الطبيعية المرغوبة. وهناك استخدام آخر لهذا الإنزيم هو إزالة الجلوكوز من البيض قبل تجفيفه، وهذه العملية تمنع تلون البيض المجفف باللون البني.

جدول (١٧) : مصادر الإنزيمات الصناعية industrial enzymes
ومجال استخدامها (عن Wainright, 1992).

مجال استخدامه	مصدره	الإنزيم
تحليل سكريات المولت.	<i>Aspergillus oryzae</i>	١ - إنزيم α - amylase
صناعة الدكستروز من النشا والجلوكوز الغذائي.	<i>Aspergillus niger</i>	٢ - إنزيم amyloglucosidase
النشا الخالي من المجاميع الجانبية.	<i>Aureobasidium pullulans</i>	٣ - إنزيم pullulanase
صناعة البيرة والتصنيع الغذائي.	<i>Penicillium emersonii</i>	٤ - إنزيم β - glucanase
صناعة البيرة - صناعة الخبز - زيادة الطعم والنكهة.	<i>Aspergillus oryzae</i>	٥ - إنزيم neutral protease
إضافة للمنظفات الصناعية.	<i>Aspergillus oryzae</i>	٦ - إنزيم alkaline protease
تحليل السليولوز مائيا.	<i>Trichoderma viride</i>	٧ - إنزيم Cellulase
صناعة الحلويات.	<i>Aspergillus niger</i>	٨ - إنزيم Invertase
صناعة النبيذ من الفواكه.	<i>Aspergillus niger</i>	٩ - إنزيم pectinase
إزالة اللون من عصير العنب.	<i>Aspergillus niger</i>	١٠ - إنزيم anthocyanase
تجبن اللبن.	<i>Mucor miehei.</i>	١١ - إنزيم Rennet المنفحة
صناعة السكر العالي الفركتوز	<i>Mucor spp.</i>	١٢ - إنزيم glucose isomerase
تحليل الدهون	<i>Aspergillus spp.</i>	١٣ - إنزيم lipase
صناعات منتجات الشرش.	<i>Saccharomyces lactis</i>	١٤ - إنزيم lactase
صناعة الخبز - صناعة اللبن.	<i>Aspergillus niger</i>	١٥ - إنزيم hemicellulase
يدخل في بعض عمليات التصنيع الغذائي والتحليل المعمل للأغذية.	<i>Aspergillus niger</i>	١٦ - إنزيم glucose oxidase
		١٧ - إنزيم catalase
صناعة الخبز - صناعة البيرة	<i>Mucor pusillus</i>	١٨ - إنزيم acid protease
إنتاج البنسلين بطريقه نصف تخليقيه	<i>Penicillium chrysogenum</i>	١٩ - إنزيم penicillin acylase
صناعة المولت	<i>Aspergillus awamori</i>	٢٠ - إنزيم glucoamylase
	<i>A - oryzae</i>	

جدول (١٨) القيمة الإجمالية العالمية للإنزيمات الفطرية المستخدمة في الصناعة (قيم تقريبية عن Wainwright, 1992).

القيمة الإجمالية بالمليون دولار أمريكي	الإنزيم
١٥٠	١ - Alkaline proteases
٧٠	٢ - Neutral proteases
٦٠	٣ - Rennin
٥٠	٤ - إنزيمات أخرى محللة للبروتينات
٤٥	٥ - Isomerases
١١٠	٦ - Amylases
٤٠	٧ - Pectinases
١٠	٨ - إنزيمات أخرى محللة للكربوهيدرات
٢٠	٩ - Lipases
٥٥	١٠ - إنزيمات أخرى
٦٠٠	إجمالي

وتنتج الإنزيمات المحللة للبروتينات **proteases** بواسطة عديد من الأنواع الفطرية، وخاصةً الفطر *Aspergillus oryzae*؛ حيث إن أكثر من نصف الخبز المنتج في الولايات المتحدة يتم تصنيعه بواسطة الإنزيمات المحللة للبروتينات الناتجة من هذا الفطر. كما تستخدم مثل هذه الإنزيمات في تطرية اللحوم قبل طهيها، وأيضاً في دباغة الجلود وصناعة المنظفات الصناعية.

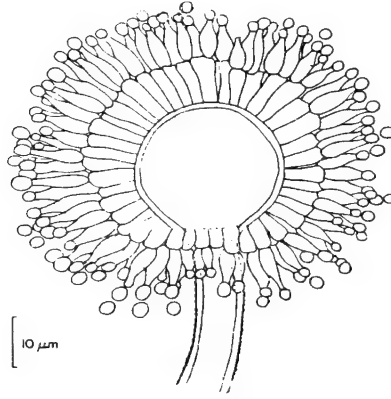
وتستعمل الإنزيمات المحللة للبكتين **pectinases** ذات المنشأ الفطري في تحضير عصير الفاكهة؛ حيث تعمل على تنقية العصير وخلوه من الشوائب والعوالق البكتينية؛ مما يحسن عملية الترشيح للحصول على عصير رائق. ويتم إنتاج هذه الإنزيمات عن

طريق تخمر المواد الصلبة **solid fermentation** باستعمال أنواع فطرية تابعة للجنسين *Aspergillus* و *Penicillium*، وكذلك عن طريق تخمر المواد السائلة باستعمال الفطر *A. ochraceus*.

كما تستعمل الإنزيمات المحللة للنشا **amylases** ذات المنشأ الفطري في صناعة البيرة **brewing industry**؛ وذلك لتحويل المواد النشوية إلى سكريات من خلال التخمر الكحولي. وأيضاً تستعمل هذه الإنزيمات في إزالة ترسيبات النشا **starch haze**، وكذلك في إنتاج البيرة الخالية من الدسكترين (والتي يطلق عليها البيرة المنخفضة الطاقة **low-calorie beer**). وتستعمل هذه الإنزيمات في صناعة الحلويات؛ وذلك لإنتاج شراب الشيكولاتة من الكاكاو.

ويعمل تزايد تخمر المخلفات العضوية على توفير مثل هذه الإنزيمات المفيدة على المدى القريب، وأيضاً في المستقبل المنظور؛ فعلى سبيل المثال، هناك مدى واسع من الإنزيمات التي تم عزلها من هيفات الفطريات المستخدمة في الصناعة؛ مثل الفطر *A. niger* المستخدم في إنتاج حمض الستريك؛ حيث ينتج من هيفاته إنزيم **acid phosphatase**، بالإضافة إلى الإنزيمات المحللة للبكتين **pectinases**، والمحللة للبروتين **proteases**، والمحللة للسيليلوز **cellulases** والمحللة للجلوكان **glucanases**.

شكل (٥٨) : الفطر *Aspergillus ochraceus*
يوضح الرأس الكونيدى **conidial head**.



جدول (١٩) : الإنزيمات المفرزة من الخمائر ذات الاستخدامات التطبيقية التجارية

(عن Wainwright, 1992)

الإنزيمات	نوع الخميرة	التطبيق التجارى
١ - الانفرتاز Invertase	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	الحلوى ذات القلب الرخو
٢ - بيتاجالاکتوسيداز Beta - galactosidase	<i>Kluyveromyces lactis</i>	الأطعمة الخالية من سكر اللاکتوز
٣ - أميلاز Amylase	<i>Schwanniomyces alluvius</i>	تحول النشا
٤ - جلوکواميلاز Glucoamylase	<i>S. diastaticus</i>	تحول النشا
٥ - ليباز Lipase	<i>Candida cylindraceae</i>	إنتاج الحساء
٦ - ألفا جالاکتوسيداز Alpha - galactosidase	<i>Pichia guilliermondii</i>	تصنيع المولاس

وهناك طلب متزايد على الإنزيمات التى تضاف إلى المواد المنظفة، فتساعد على إزالة البقع من الأنسجة فى درجات الحرارة المنخفضة، وبدون الحاجة إلى إضافة مواد مذيبة.

إلا أنه من المؤسف أن إنتاج الإنزيمات المحللة للدهون *lipases* من الأحياء الدقيقة منخفض، وليس له أهمية تجارية. ولقد ازداد إنتاج مثل هذه الإنزيمات فى عام ١٩٨٨؛ وذلك عندما أنتجت شركة Norsk Hydro إنزيم *Lipolase*، وهو أول إنزيم محلل للدهون ينتج بصورة تجارية فى العالم، ويستعمل فى أغراض التنظيف.

ويعمل هذا الإنزيم بأقصى كفاءة له فى درجات الحرارة المنخفضة (حوالى ٣٠°م)، وتم انتاج مسحوق غسيل ياباني *Japanese washing powder* أطلق عليه

الاسم التجاري **Hi-Top Lipolase**. ويعتبر الإنزيم المحلل للدهون **Lipolase** هو أول إنزيم يستعمل فى التنظيف ينتج عن طريق تقنية إعادة توليف الحمض النووى **recombinant DNA technology**.

وفى التقنية السابقة يتم الحصول على الجين من سلالة مختارة من الفطر الهيفى **Humicola**، ثم ينقل إلى الفطر **Aspergillus oryzae**؛ الذى يسهل إنمائه بالمقارنة بالفطر الأول؛ منتجاً كمية عالية من هذا الإنزيم.

وعادةً ما تستعمل طرق تقليدية فى إزالة الشعر من جلد الحيوانات؛ حيث تعتمد مثل هذه الطرق على استعمال طريقة سلفيد الكالسيوم **lime sulphide**؛ الذى يؤدى إلى تلوث الأنهار بمخلفات الصرف الصحى. وكنتيجةً لذلك، فإن صناعة دباغة الجلود فى العالم تكاد تتوقف؛ نظراً للإجراءات الصارمة الخاصة بحماية البيئة من التلوث.

ولعل الوسيلة الفعالة لحل هذه المشكلة هو استعمال الإنزيمات فى إزالة الشعر من جلد الحيوانات. ولقد اتبعت طريقة إزالة الشعر إنزيمياً **enzymic depilation** باستعمال الإنزيمات القاعدية المحللة للبروتين **alkaline proteases** التى تنتج عن طريق عزلات جديدة للفطر **A. flavus**. ولقد أظهر التخمر الصلب باستعمال هذا الفطر أنه أكثر فاعليةً فى إنتاج الإنزيمات الضرورية، بالمقارنة بالتخمر السائل **submerged fermentation**.

ومن ناحية أخرى، وجد أن بعض الخمائر تستطيع النمو على كحول الميثانول، وخاصةً تلك الأنواع التى يطلق عليها اسم **methylotrophic species**. ويمكن لمثل هذه الأنواع من الخمائر عند إنمائها فى ظروف قلة الميثانول أن تنتج إنزيم **alcohol dehydrogenase** بنسبة عالية تصل إلى ٣٥٪ من محتوياتها من البروتين القابل للذوبان **soluble protein content**.

ويمكن عزل هذا الإنزيم من فطر الخميرة *Pichia pastoris*؛ حيث يستعمل بصفة رئيسية كوسيلة لتقدير المحتوى الكحولي، كما يشجع هذا الإنزيم عملية الأكسدة *generates hydrogen peroxidase*؛ ولذلك فهو يعتبر عاملاً مزيلاً للألوان *bleach-ing agent*.

وفي النهاية، فإن إنزيم *naraginase* - الذي ينتج من الفطر *A. niger* - يستعمل في أغراض غير مألوفة؛ مثل إزالة مادة النارجين *nargin* ذات الطعم المر من عصير البرتقال.

٢- الإنتاج التجارى للإنزيمات الفطرية:

١- إنزيمات ألفا أميليز:

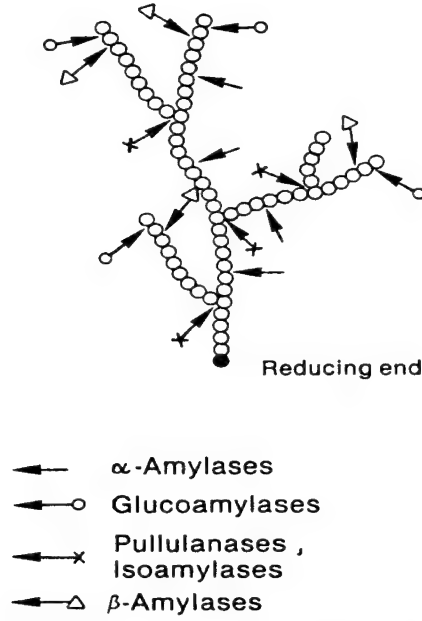
ترجع أهمية هذه المجموعة من الإنزيمات إلى دورها فى تحويل النشا إلى سكريات؛ حيث تستخدم فى عديد من الصناعات الغذائية، وفى الاستفادة من بعض المخلفات الزراعية.

وتشمل هذه المجموعة من الإنزيمات إنزيم ألفا أميليز α -amylase، وبيتا أميليز β -amylase، وجلوكو أميليز *glucoamylase*، وأيزوأميليز *isosamylase*، وبوليولانيز *pul-lulanse*. ويوضح شكل (٥٩) كيفية التحلل بها هذه الإنزيمات جزيء النشا.

* إنزيم ألفا أميليز:

يعتبر هذا الإنزيم (α - glucan - glucanhydrolase - 1,4) من الإنزيمات التى تفرزها خلايا الفطر خارجياً؛ حيث يعمل هذا الإنزيم على تحليل الرابطة الجليكوزيدية ٤,١. ويقوم هذا الإنزيم بتكسير الجزيء داخلياً، بينما لا يؤثر على الروابط الجليكوزيدية ٦,١.

وهناك أنواع عديدة من الكائنات الحية الدقيقة (بكتيريا وفطريات) تقوم بإفراز هذا الإنزيم، وتختلف فيما بينها فى درجة تحليل النشا، ورقم حموضة البيئة المناسب، والمدى الحرارى الملائم لنشاطها الحيوى.



شكل (٥٩) : الكيفية التي تحلل بها إنزيمات مجموعة الأميليز جزء النشا.

ويطلق على الإنزيم الذي ينتج عن نشاطه الحيوى سكريات حرة اسم «الأميليز السكرى saccharogenic amylase»، بينما يطلق اسم «الأميليز المحلل (المسيل) للنشا starch liquefying amylase» على الإنزيم الذي يحلل جزء النشا إلى مركبات أقل تعقيداً دون تكوين سكريات حرة. وقد يكون الكائن الدقيق مشابهاً واحداً من مشابهي إنزيم ألفا أميليز السابقين، أو قد يكونهما معاً في نفس الوقت.

وتتميز العديد من أنواع الفطريات بإنتاجها لإنزيم ألفا أميليز؛ مثال ذلك الأنواع التابعة للأجناس *Aspergillus*، و *Penicillium*، و *Cephalosporium*، و *Mucor*، و

Candida، و *Neurospora*، و *Rhizopus*. ويتراوح الوزن الجزيئي للإنزيمات هذه الفطريات بين ٥٠ ألف دالتون و ١٠٠ ألف دالتون. ويحتوى بروتين الإنزيم على كمية كبيرة من الفيروسين والترتوفان، كما تحتاج هذه الإنزيمات إلى أيون الكالسيوم كمثبت *stabilizer*؛ وذلك لحفظ خصائص الإنزيم الكيميائية والطبيعية.

وعلى الرغم من إمكانية إنتاج إنزيم ألفا أميليز من بعض أنواع البكتيريا والفطريات المختلفة، إلا أن الاستخدام التجارى للإنزيم البكتيرى أكثر بكثير من نفس الإنزيم المنتج بواسطة الفطريات، وخاصة من الأنواع التابعة للجنس *Aspergillus*.

فعلى سبيل المثال يستخدم إنزيم ألفا أميليز المفرز من بكتيريا جنس *Bacillus* فى معاملة النشا المستخدم فى إنتاج الجلوكوز والمالتوز والفركتوز، وكذلك فى صناعة الكحول لتحليل النشا قبل إضافة المولت، وفى صناعة البيرة لتحليل المواد النشوية المضافة، وفى صناعة السكر لتحسين قدرة محاليل سكر القصب على الترشيع.

كما يستخدم هذا الإنزيم فى صناعة الورق؛ وذلك لتحليل النشا دون إنتاج سكر لاستخدامه كمادة لاصقة، وفى صناعة النسيج لإزالة النشا على درجات الحرارة العالية بالطريقة المستمرة، وفى صناعة الأعلاف لتحسين الاستفادة الغذائية؛ وذلك عند استخدام مخلفات الشعير فى تغذية الدواجن والعجول، وفى صناعة المنظفات الصناعية لزيادة قدرتها على إزالة المواد النشوية، خاصة المنظفات المستخدمة فى غسالات الأطباق.

بينما يضاف الإنزيم الفطرى - الناتج غالباً من الجنس *Aspergillus* - إلى حبوب بعض سلالات القمح التى تتميز بخلوها من هذا الإنزيم وذلك أثناء طحنها لإنتاج دقيق يحتوى على هذا الإنزيم، بحيث يصلح لصناعة الخبز ومنتجاته، نظراً لأهمية هذا الإنزيم فى زيادة كمية المواد الكربوهيدراتية القابلة للتخمير.

وبالإضافة إلى ما سبق، يستخدم إنزيم ألفا أميليز المفرز من الفطريات فى صناعة البيرة، وذلك لزيادة القدرة التخمرية لحبوب الشعير المستخدمة، وأيضاً لتحسين صفات

البيرة. كما يستعمل هذا الإنزيم فى تحليل النشا قبل إضافة المولت فى صناعة الكحول.

ويمكن إنتاج إنزيم ألفا أميليز من الفطريات، وذلك بواسطة الطريقة المستمرة، إلا أنه يمكن التحكم فى إنتاجه عن طريق بعض المواد المنظمة *regulators*. ويعتبر الفطر *Aspergillus oryzae* من أكثر الفطريات المستخدمة فى الإنتاج التجارى لهذا الإنزيم، حيث يتم إنمائه على بيئة غذائية محددة التركيب.

وتحتوى البيئة المستخدمة فى هذا الشأن على : ٨٪ نشا، ١,٢٪ نترات صوديوم، ٠,١٪ فوسفات ثنائى البوتاسيوم، ٠,١٪ كبريتات مغنسيوم، ٠,٥٪ كلوريد بوتاسيوم، ٠,٠٣٪ كبريتات حديدوز، ٠,٠٨٪ نترات مغنسيوم، ٠,٥٪ فوسفات أحادى المغنسيوم، ٢,٠٪ مستخلص مولت.

ويتم تخضين الفطر لفترة حوالى ٣-٤ أيام على درجة حرارة ٢٨-٣٠°م، حيث ينتج هذا الإنزيم، ويظل محتفظاً بخواصه الطبيعية والكيميائية فى رقم حموضة يتراوح بين ٥ و ٨، خاصة فى وجود أملاح الكالسيوم.

* إنزيم بيتا أميليز:

ينتج هذا الإنزيم β -amylase (α -1,4-glucan-maltohydrolase) فى النباتات بصورة أساسية، إلا أن هناك عدداً من الكائنات الحية الدقيقة تقوم بإنتاجه، مثل بعض الأنواع البكتيرية التابعة للأجناس *Bacillus* و *Streptomyces* و *Pseudomonas*، بالإضافة إلى بعض الفطريات مثل *Rhizopus japonicus*.

وعادة ما يتم جمع العزلات البرية *wild types* من الكائنات الدقيقة المنتجة لهذا الإنزيم، حيث نلجأ إلى عدة وسائل لتحسين قدرتها على إنتاجه. ومن هذه الوسائل الطفرات، التى يمكن عن طريقها الوصول إلى سلالات جديدة ذات إنتاجية فائقة من الإنزيم تصل إلى حوالى ٢٠٠ ضعف العزلة البرية الأصلية.

ويؤدي نشاط هذا الإنزيم على النشا إلى إنتاج سكر المالتوز، بالإضافة إلى بعض الدكستريانات. ولا يحتاج إنزيم بيتا أميليز إلى الكالسيوم لكي يظل محتفظاً بخواصه الطبيعية والكيميائية، لذا يستخدم هذا الإنزيم في إنتاج شراب المالتوز.

وتتراوح درجة الحرارة المثلى لنشاط إنزيم بيتا أميليز بين ٣٧-٥٥°م، بينما رقم الحموضة المناسب هو ٦-٧. وتعمل دلائل الثيول *thiol-reagents* على تثبيط فعل هذا الإنزيم، مثل دليل *p-chloromercuribenzoate*، وكذلك تفعل الأكسدة.

* إنزيم جلوكو أميليز:

يؤدي إنزيم جلوكو أميليز *glucoamylase* (α -1,4 *glucanglucohydrolase*) إلى فصل وحدات الجلوكوز من جزيء النشا، وذلك من نهايته الطرفية غير المختزلة. إلا أن تأثير هذا الإنزيم على تحليل المالتوز بطيء، نظراً لعدم قدرته على تحليل الرابطة الجليكوزيدية ١-٦.

ونظراً لما سبق، فإنه ينتج عن تحليل جزيء النشا بواسطة إنزيم جلوكو أميليز جلوكوز ومالتوز، بالإضافة إلى بعض الدكستريانات.

ويستخدم في إنتاج هذا الإنزيم عديد من الفطريات، مثال ذلك *Aspergillus niger* و *A. oryzae* و *A. awamori* و *Rhizopus niveus* و *R. delemar* و *R. formosae* و *R. javanicus* و *sis*.

وفي أوروبا والولايات المتحدة ينتج إنزيم جلوكو أميليز تجارياً باستعمال الفطر *A. ni-ger* والفطر *R. niveus* ؛ وذلك باتباع تقنية التخمير العميق *deep fermentation*، في أوعية تخمر يصل حجمها إلى نحو ١٥٠ متراً مكعباً.

ولقد تمت تجربة إنتاج هذا الإنزيم باتباع تقنية الدفعات المتزايدة *fed batch culture*، حيث يستغرق ذلك حوالي ٣٢٠ ساعة. ويمكن للسلالة الفطرية الواحدة إنتاج أكثر من مشابه لنفس الإنزيم *isoenzyme*.

فعلى سبيل المثال، ينتج الفطر *Aspergillus awamori var. kawachi* ثلاثة مشابهاً لإنزيم جلوكو أميليز، يحلل أحدهما نشأ الذرة الخام، بينما لا يمكن للمشابهين الآخرين تحليله. لذلك فإنه يجب الاهتمام بمعرفة نوع مشابه الإنزيم المنتج بواسطة الفطر، واستخدام سلالات فطرية عالية الإنتاج لهذا المشابه الإنزيمى فى الإنتاج التجارى لإنزيم جلوكو أميليز.

ويجب أن تحتوى بيئة الإنتاج على نشأ، حيث إن النشا يعمل على حث الإنزيم على النشاط. وعلى العكس من ذلك يعمل جلوكوز وحمض الجلوتاميك واللاكتوز على تثبيط نشاط الإنزيم تشبيطاً أيضاً *catabolic repression*.

وتتراوح فترة إنتاج إنزيم جلوكو أميليز نحو ٣-٥ أيام، وذلك بالتحضين على درجة حرارة تتراوح بين ٢٨°م إلى ٣٥°م تبعاً لنوع سلالة الفطر المستخدمة فى الإنتاج. وقد تنتج بعض سلالات الفطر إنزيم ألفا أميليز بجانب إنتاجها لإنزيم جلوكو أميليز وذلك تحت نفس الظروف.

وبالإضافة إلى ذلك، نجد أن ظروف اعداد جراثيم الفطر المستخدم فى الإنتاج تخدم كمية إنزيم جلوكو أميليز المنتجة. فعند استخدام بيئة غذائية غنية تحتوى على مستخلص المولت، فإن الفطر يفقد أكثر من نصف قدرته على إنتاج الإنزيم بعد ٦ مرات نقل، بينما تؤدي تنمية الفطر على بيئات غذائية تحتوى على الاحتياجات الأساسية - مثل بيئة زابكس/دوكس - إلى المحافظة على إنتاجية الإنزيم بمعدل مرتفع، إلا أن أعداد الجراثيم تكون منخفضة.

ب- الإنزيمات المحللة للروابط الجليكوزيدية ١, ٦:

تعمل هذه الإنزيمات على تحليل الروابط الجليكوزيدية الجانبية ١, ٦ للأميلوبكتين. وتضم هذه الإنزيمات مجموعتين: الأولى تعمل مباشرة على الأميلوبكتين مثل إنزيم بوليولانيز *pullulanase* وايزو أميليز *isoamylase*، والثانية ذات تأثير غير مباشر بعد التعديل الإنزيمى الذى تقوم به إنزيمات الأميليز الأخرى.

وإنزيم بوليولانيز عبارة عن الفاجلوكاناز، وهو يحلل الأميلويكتين والبوليولان. وكان هذا الإنزيم ينتج بواسطة الفطر *Pullaria pullulans*. أما إنزيم أيزوأميليز فإنه لا يحلل البوليولان. وهناك أنواع مختلفة من البكتيريا المنتجة لهذه الإنزيمات، مثل *Bacillus polymyxa* و *Enterobacter aerogenes*.

ج- إنزيمات تحليل البروتين proteases:

تجىء هذه الإنزيمات فى المرتبة الثانية بعد إنزيمات الأميليز من ناحية إنتاجها التجارى فى العالم، حيث يصل معدل الإنتاج العالمى السنوى منها إلى نحو ٥٠٠ طن (محسوب على أساس البروتين النقى).

وتستخدم هذه الإنزيمات فى صناعة المنظفات الصناعية وصناعة الأدوية، ومنتجات الجلود، وصناعة الأغذية، والأفلام الحساسة، وتصنيع البروتين المتحلل ومعالجة المخلفات العضوية البروتينية.

وتقسم إنزيمات تحليل البروتين إلى ثلاثة أقسام رئيسية تبعاً لرقم حموضة وسط التفاعل، وهى البروتييز الحامضى، والبروتييز القلوى، والبروتييز المتعادل.

* البروتييز القلوى alkaline protease :

على الرغم من قدرة بعض الفطريات على إنتاج هذا الإنزيم، مثل *Aspergillus niger* و *A. sojae* و *A. flavus* و *A. oryzae*، إلا أن معظم الإنتاج التجارى لهذا الإنزيم يتم الحصول عليه من بعض الأنواع التابعة لجنس البكتيريا *Bacillus*، والذي يستخدم فى صناعة المنظفات الصناعية.

ويتميز الإنزيم البكتيرى بثباته تحت ظروف الحرارة المرتفعة، وفى مدى واسع من رقم الحموضة يتراوح بين ٩-١١، وكذلك فى وجود المواد الخلبية.

ويتبع فى الإنتاج التجارى لإنزيم البروتييز القلوى طريقة المزارع المغمورة، حيث ينمى الفطر - أو البكتيريا - فى وعاء تخمر تتراوح سعته من ٤٠ إلى ١٠٠ متر مكعب. ويتم التحكم فى الإنتاج عن طريق التحكم فى محتوى البيئة، خاصة محاليل أملاح الأمونيوم، والأحماض الأمينية، وكذلك فى تركيز الأكسوجين.

وبعد إنتاج الإنزيم، يتم تحويله إلى حبيبات قبل استخدامه، خاصة في مجال صناعة المنظفات الصناعية، نظراً لأن استنشاق هذا الإنزيم يؤدي إلى تفاعلات حساسية. ولذلك يتبع - عادةً - تعبئة الإنزيم في كبسولات دقيقة microcapsulation مع مركب محب للدهون مثل بولى إيثيلين جليكول، وتتم إضافة هذه الكبسولات إلى مسحوق التنظيف.

* البروتياز المتعادل neutral protease:

ينتج هذا الإنزيم بواسطة عديد من الفطريات، مثل *Aspergillus oryzae* و *A. so-* *Pericularia oryzae* و *jae*.

ويحتاج هذا الإنزيم إلى أيونات الكالسيوم والصوديوم والكلوريد كمثبتات، وذلك لحفظ خصائص الإنزيم الطبيعية والكيميائية. والإنزيم ثابت عند رقم الحموضة المتعادل ودرجة حرارة تتراوح بين ٣٥° و ٤٥°.

ويشيط إنزيم البروتياز المتعادل في وجود البروتياز القاعدي؛ ولذا فإن استخداماته الصناعية محدودة. ومن أهم مجالات استخدام هذا الإنزيم في التصنيع الغذائي صناعة الخبز وبعض المخبوزات الأخرى، بالإضافة إلى صناعة الجلود.

* البروتياز الحامض acid protease:

يشيع إنتاج هذا الإنزيم بواسطة كثير من الفطريات؛ وذلك عند رقم حموضة ٢-٤. ويستخدم هذا الإنزيم كبديل لإنزيمات المنفحة rennin، وفي هضم بروتينات فول الصويا، وفي صناعة صوص الصويا، وفي تحليل جلوتين القمح المستعمل في صناعة منتجات الخبز.

ومن هذه الإنزيمات إنزيم aspergillopeptidase A الذى ينتجه الفطر *Aspergillus saitoi*. ويستخدم هذا الإنزيم في أدوية الهضم؛ حيث يتم إنتاج الفطر للإنزيم عند نموه على بيئة سائلة لمدة ٦٠-٩٦ ساعة على حرارة ٣٠° - ٣٥°، وبعد تمام الإنتاج يتم ترسيب الإنزيم بإضافة كحول الإيثانول.

ويشابه إنزيم *aspergillopeptidase A* إنزيم الببسين؛ حيث إن درجة الحرارة المثلى لنشاطه هي ٢٣٠، عند رقم حموضة ٢,٥-٣.

ويتم الإنتاج التجارى لإنزيم *takadiastase* فى اليابان باستعمال الفطر *Aspergillus oryzae*؛ وهذا الإنزيم عبارة عن خليط من عدة إنزيمات؛ أهمها إنزيم ألفا أميليز، وإنزيم البروتيز الحامضى. ويستخدم هذا المستحضر التجارى كعامل مساعد للهضم، وفى صناعة منتجات الخبيز.

* إنزيم الرنين *rennin*:

يعتبر هذا الإنزيم من إنزيمات البروتيز الحامضية والذى يطلق عليه اسم مستخلص المنفحة (*rennet*)، ويستخدم هذا الإنزيم أساساً فى صناعة الجبن ذى الخثرة الإنزيمية؛ حيث يعمل الإنزيم على كسر الرابطة بين الفينيل الأنين رقم ١٠٥ والمثيونين رقم ١٠٦ فى سلسلة الكاباكازين؛ مما يسبب ترسيب جسيمات الكازين مكونة خثرة الجبن.

ولقد كانت الأنفحة (المعدة الرابعة للعجول الرضيعة) هى المصدر الوحيد للحصول على إنزيم الرنين، إلا أن عدم السماح بذبح إناث العجول أدى إلى تناقص كمية الإنزيم المتاحة من مصادرها الطبيعية الحيوانية (المنفحة)؛ لذا لجأ العالم إلى مصدر آخر لهذا الإنزيم، وهو الأحياء الدقيقة.

وكان أول مستحضر فطري بديل للمنفحة سُمح بتداوله تجارياً هو ما تم إنتاجه من شركة فايزر الأمريكية عام ١٩٦٧؛ وذلك باستعمال الفطر *Endothia parasitica*، ثم تلا ذلك استخدام الفطر *Mucor pusillus* والفطر *M. miehei* لهذا الغرض.

ويتم تنمية الفطر *E. parasitica* على بيئة غذائية تتكون من ٣٪ دقيق فول الصويا، و ١٪ جلوكوزاً، ١٪ لبناً فرزاً، ٣٪ تترات صوديوم، ٥,٠٥٪ فوسفات بوتاسيوم

ثنائية ، ٠,٠٢٥ ٪ كبريتات مغنسيوم؛ وذلك لإنتاج إنزيم الرنين (المنفحة) صناعياً من الفطر.

وتحتاج عملية الإنتاج إلى إنماء الفطر السابق لمدة ٤٨ ساعة في البيئة الغذائية بعد ضبط رقم حموضتها عند ٦,٨ ، ودرجة حرارة ٢٨°م. وهذا الإنزيم ثابت عند رقم حموضة -٤,٥ - ٥,٥.

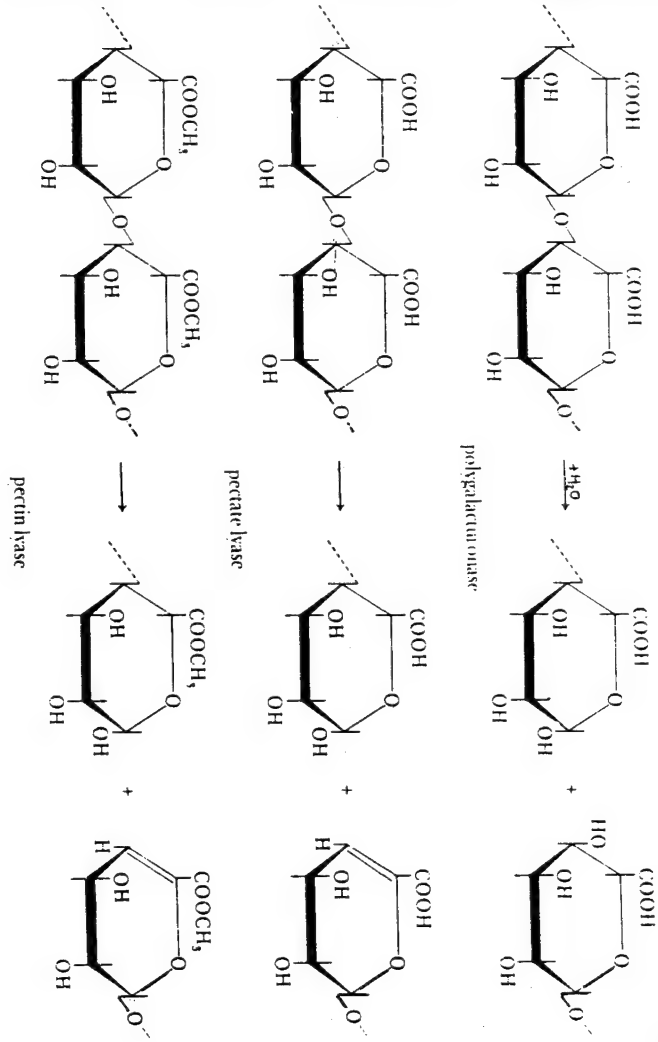
وقد أمكن إنتاج هذا الإنزيم باستعمال الفطر *M. miehei* وإنماؤه على بيئة مكونة من ٤ ٪ نشا بطاطس، ٣ ٪ دقيق فول الصويا، ١٠ ٪ حبوب شعير مجروشة ، و ٥ ٪ كربونات كالسيوم. ويتم التحضين على حرارة ٤٠°م لمدة ٥-٦ أيام.

ولقد لعبت تقنية الهندسة الوراثية دوراً كبيراً في تطوير الإنتاج الصناعي لإنزيم الرنين بواسطة الأحياء الدقيقة؛ وذلك عن طريق إكثار الجين المسئول عن إنتاج الإنزيم الأولي *prorennin* في العجول، ونقله إلى خلايا بكتيريا *Escherichia coli*؛ حيث تنتج هذه البكتيريا إنزيماً مطابقاً لمنفحة العجول.

وأيضاً تم نقل الجين المسئول عن إنتاج هذا الإنزيم إلى خلايا خميرة *Kluyvero-mycetes marxianus*؛ حيث أمكن إنتاجه تجارياً بكميات كبيرة وتكاليف منخفضة، وفي فترة قصيرة.

د - إنزيمات تحليل البكتين *pectinases*:

تضم هذه المجموعة من الإنزيمات ستة أنواع تقوم بمهاجمة جزيء البكتين من عدة جوانب. ويتركب البكتين أساساً من وحدات حمض جالاكتورونيك مرتبطة بعضها ببعض بروابط ألفا ١,٤. وترتبط مجموعة الكاربوكسيل بنسبة ٩٥ ٪ من هذه الوحدات بكحول الميثانول برابطة أستير. كما هو موضح في شكل (٦٠).



شكل (٢٠) : تحليل الروابط الجليكوزيدية في البكتين بواسطة إنزيمات بولي جالاكتورونيز ويكتات
ليوروكسينوليز.

ويتم تعريف الإنزيمات المحللة للبكتين تبعاً لنقاط تأثيرها على جزيء البكتين؛ فعلى سبيل المثال يقوم إنزيم بكتين إستريز *pectinestrerase* بنزع مجاميع الميثيل، ويعمل إنزيم *endo - ploygalacturonase* و *exo - polygalacturonase* على كسر الروابط الجليكوزيدية بين وحدات سلسلة البكتين، بينما يقوم إنزيم *pectinlyase* الفطري أو إنزيم *pactate lyase* البكتيري بكسر الروابط الجليكوزيدية بطريقة *transelimination* (شكل ٦١).

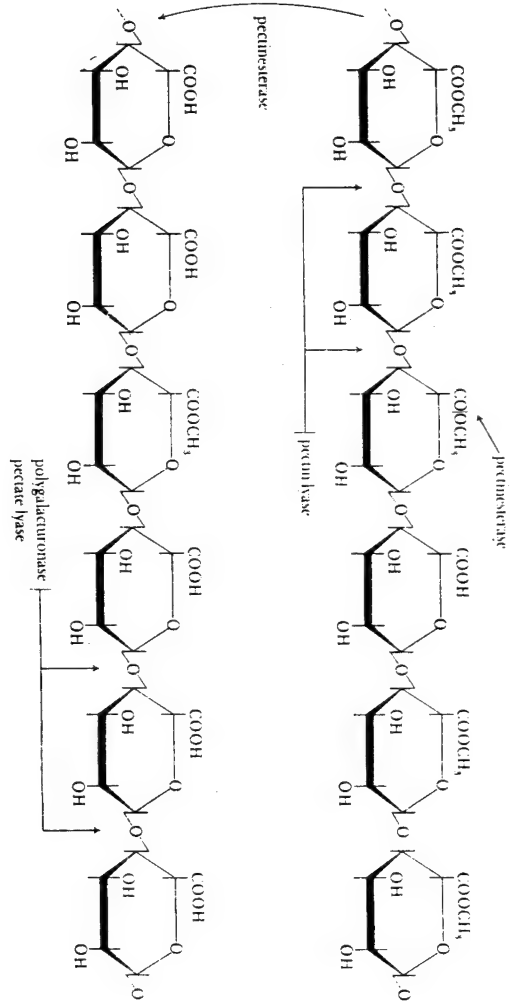
وتهتم العديد من الشركات التجارية بإنتاج الإنزيمات المحللة للبكتين من الفطريات على نطاق واسع؛ مستخدمةً في ذلك بعض السلالات التابعة للفطريات *Aspergillus niger* و *A. wentii* وأيضاً بعض الأنواع التابعة للجنس *Rhizopus*.

ويتبع في الإنتاج التجاري لإنزيمات تحليل البكتين إنماء الفطر *A. niger* باتباع تقنية التنمية على دفعات *batch culture*؛ وذلك باستعمال بيئة غذائية تحتوي على ٢٪ سكرورز، ٢٪ بكتيناً؛ حيث يتم ضبط رقم الحموضة عند ٣-٤ . ويستمر التحضين لمدة ٦٠ - ٨٠ ساعة على درجة حرارة ٣٧°م.

ويتم الحصول على الإنزيم بعد ذلك بسهولة؛ حيث تتبع طريقة الطرد المركزي للبيئة الغذائية بعد انتهاء فترة التحضين، وقد يتم ترشيحها للتخلص من النموات الفطرية (الكتلة الحيوية للفطر *fungus biomass*)، ثم يتم ترسيب الإنزيم باستعمال مذيبات عضوية، وبعد ذلك يجفف للاستخدام المباشر.

ويتبع حالياً تعبئة هذه الإنزيمات في كبسولات دقيقة للاستخدامات التجارية، كما أجريت بعض المحاولات لتسكين الإنزيمات البكتينية أو خلايا الفطريات المنتجة لها، إلا أن ذلك لم يستخدم تجارياً على نطاق واسع.

وتستخدم مثل هذه الإنزيمات في ترويق العصائر المحتوية على مواد عالقة؛ مثل عصائر المشمش والخوخ والجوافة وغيرها، وفي تصنيع عجائن العنب، وفي تطرية وإنضاج بعض أنواع الخضر والفاكهة، وفي استخلاص زيت الزيتون.

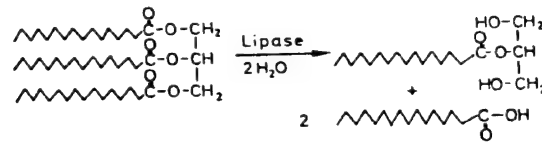


شكل (٦١) : جزيء البكتين ، ونقاط تأثير الإنزيمات البكتينية عليه .

هـ- إنزيمات تحليل الدهون lipases:

هذه الإنزيمات عبارة عن *glycerol ester hydrolase*؛ حيث تعمل على تحليل الدهون إلى جلسريدات أحادية أو ثنائية، بالإضافة إلى أحماض دهنية. وتفرز معظم هذه الإنزيمات خارجياً بواسطة العديد من الأنواع الفطرية التابعة للأجناس: *Mucor*، و *Aspergillus*، و *Rhizopus*، وأيضاً فطر الخميرة *Candida*.

ويتم حث إنتاج الإنزيم بواسطة الفطر بإضافة مادة دهنية أو زيتية مناسبة في البيئة الغذائية، إلا أنه في بعض الأحيان تؤدي إضافة المواد السابقة إلى تثبيط إنتاج الإنزيم، كما هي الحال في الفطر *Penicillium roqueforti* المستعمل في صناعة الجبن الروكفور. كما أن وجود الجليسرول أو الجلوكوز قد يؤدي أيضاً إلى تثبيط إنتاج الإنزيم المحلل للدهون.



شكل (٦٢) : تأثير إنزيم تحليل الدهون lipase على الدهن.

وعلى العكس من ذلك، فإن إضافة أملاح المغنسيوم تعمل على زيادة إنتاج الإنزيم الفطري؛ حيث تساعد هذه الأملاح على تحرير الإنزيم من على سطح الهيفات الفطرية. وتختلف الحموضة والحرارة المثلى تبعاً لنوع الفطر المستخدم في الإنتاج التجاري للإنزيمات المحللة للدهون، ولكن درجة الحرارة المناسبة لمعظم هذه الفطريات هي ٣٠°م - ٣٧°م ورقم الحموضة ٥,٥ - ٨,٠.

وتستخدم الإنزيمات الفطرية المحللة للدهون في صناعة الأدوية، وخاصة أدوية تعويض ليباز البنكرياس. كما تستخدم هذه الإنزيمات في الإسراع من تسوية الجبن

وتحسين طعمه ونكهته، وأيضاً في صناعة المنظفات الصناعية لتحليل بقايا الزيوت والدهون، وفي صناعة تعديل الدهون الغذائية.

و - إنزيمات تحليل السيليلوز cellulases:

هى عبارة عن مجموعة من الإنزيمات المحللة للرابطة الجليكوزيدية بيتا ١,٤ فى جزيء السيليلوز. وتضم هذه المجموعة الإنزيمات التالية:

* إنزيم endocellulase:

وهو عبارة عن endo-β-1,4 glucanase ويطلق عليه اسم carboxy methylcel-lulase، أو C_x cellulase.

* إنزيم exocellulase:

وهو عبارة عن exo-β-1,4 glucanase ويطلق عليه اسم cellobiohydrolase، أو C₁ cellulase، أو avicelase.

* إنزيم cellobiase:

وهو عبارة عن β-1,4 glucosidase.

ومن أكثر الفطريات إنتاجاً لهذه الإنزيمات الفطر *Trichoderma viridae*، والفطر *Aspergillus niger*، والفطر *Chaetomium thermophile*، والفطر *Sporotrichium pulverulentum*. ومعظم هذه الفطريات تستخدم فى الإنتاج التجارى لهذه الإنزيمات.

ولقد وجد أن أفضل بيئة فى إنتاج مثل هذه الإنزيمات هى البيئة التى تحتوى على مصدر السيليلوز المطلوب تحليله كمصدرٍ وحيدٍ للكربون، بالإضافة إلى مصدرٍ نيتروجينى مناسب؛ مثل أملاح الأمونيوم أو اليوريا مع بعض الأملاح المعدنية الضرورية.

وتستخدم هذه الإنزيمات فى إنتاج سكر الجلوكوز من المخلفات السيليلوزية، وفى عزل بروتينات فول الصويا، وفى تعديل بعض الأغذية، وفى إعداد مركبات القهوة، وفى استخلاص مكونات الشاي الأخضر، كما تستخدم - أحياناً - كإضافاتٍ لبعض العلائق الخاصة المستخدمة فى تغذية الحيوانات.

ز- إنزيم أكسدة الجلوكوز glucose oxidase:

هذا الإنزيم عبارة عن β -D-glucose : oxygen 1- oxidoreductase؛ حيث ينتجه الفطر *Aspergillus niger*. ويعمل هذا الإنزيم على أكسدة الجلوكوز إلى جلوكونو دلتا لاكتون وفوق أكسيد الهيدروجين، ثم يتحول الجلوكونو دلتا لاكتون بعد ذلك إلى حمض الجلوكونيك.

ويعتبر هذا الإنزيم من الإنزيمات الداخلية المتكونة داخل هيفات الفطر؛ لذا يجب تكسير الخلايا للحصول عليه. ورقم الحموضة المناسب لهذا الإنزيم هو 5,5.

ويستخدم هذا الإنزيم في الكشف عن الجلوكوز في البول والدم، كما يستخدم في تقدير معدلات استهلاك الأكسوجين في عمليات التخمر الصناعية، بالإضافة إلى استخدامه في إعداد منتجات البيض والمايونيز للتخلص من الأكسوجين؛ حتى لا يؤدي وجوده إلى التلون باللون البني.

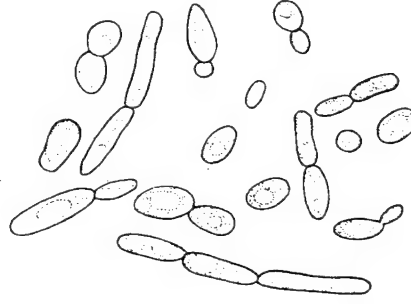
وبالإضافة إلى ماسبق، يستخدم إنزيم أكسدة الجلوكوز في عديد من التقديرات العملية بمعامل تحليل الأدوية والأغذية.

ح- إنزيم تحليل اللاكتوز lactase:

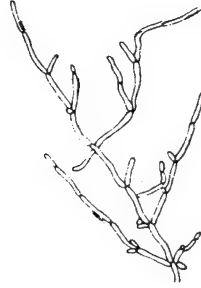
يطلق على هذا الإنزيم أيضاً اسم β -galactosidase، وهو من الإنزيمات المحللة لسكر اللاكتوز، محولاً إياه إلى جلوكوز وجلكتوز. وينتشر هذا الإنزيم في جميع الحيوانات الثديية، وكذلك بعض أنواع البكتيريا والفطريات.

ويتم الإنتاج التجاري لهذا الإنزيم باستخدام الفطر *Aspergillus niger* أو فطر الخمير *Kluyveromyces marxianus*؛ حيث تستخدم في إنتاجه بيئات غذائية تحتوي على شرش اللبن. ويتم استخلاص الإنزيم بمعاملة الخلايا بالتولوين عند درجة حرارة ٣٧° في وجود محلول منظم فوسفاتي عند رقم حموضة متعادل، ووجود أملاح كلوريد المنجنيز وكبريتات المغنسيوم.

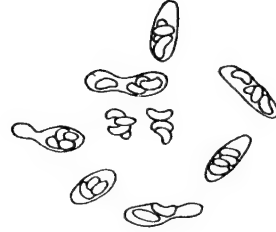
أ- نمو فطر الخميرة بعد ثلاثة أيام على بيئة مستخلص المولت.



ب- نمو فطر الخميرة على بيئة آجار دقيق الذرة.



ج- نمو فطر الخميرة بعد أربعة أيام على بيئة آجار مستخلص الخميرة والمولت.



شكل (٦٣) : فطر الخميرة *Kluyveromyces marxianus*.

ويرسب إنزيم تحليل اللاكتوز بعد إنتاجه بإضافة الأسيتون، ثم يجفف. وقد تتم تنقية الإنزيم بعد ذلك عن طريق أعمدة الفصل الكروماتوجرافي.

ولقد أمكن تسكين هذا الإنزيم على بعض الدعامات في صورة أعمدة، وإمرار اللبن عليها لتحليل سكر اللبن (اللاكتوز). ويستخدم إنزيم تحليل اللاكتوز في إعداد منتجات لبنية خالية من سكر اللاكتوز؛ وذلك لتغذية الأفراد ذوي المعدة الحساسة لهذا السكر، أو لمن لا يستطيع الاستفادة من اللاكتوز.

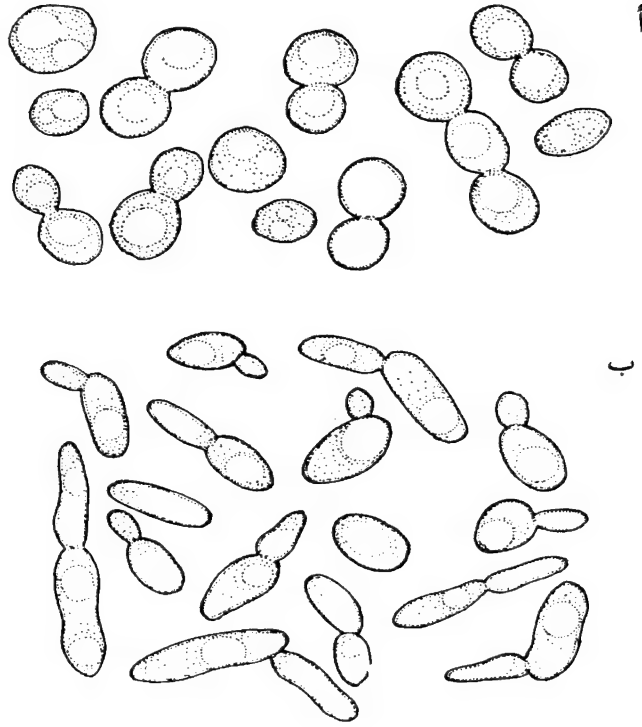
كما يستخدم هذا الإنزيم في زيادة درجة حلاوة اللبن ومنتجاته، وإنتاج منتجات لبنية منخفضة الطاقة (دايت diet)، وكذلك لتصنيع بعض المنتجات الغذائية من شرش اللبن.

ط - إنزيم تحليل السكر *invertase* :

هذا الإنزيم عبارة عن *fructohydrolase* : *B - D - fructofuranoside*؛ حيث تم عزله من خميرة الخباز *Saccharomyces cerevisiae*؛ وهو يقوم بتحليل السكر إلى جلوكوز وفركتوز.

ويتميز هذا الإنزيم بأنه قد يتكون داخل خلايا الفطر أو قد يفرز خارجها، ولقد وجد أن صفات الإنزيم الداخلى والخارجى متشابهة في صفات معينة ومختلفة في صفات أخرى؛ مثال ذلك درجة الثبات.

وينتج هذا الإنزيم تجارياً باستعمال خميرة الخباز أو خميرة *S. carlsbergensis*؛ حيث يتم تحميله على مواد حاملة بالأدمصاص؛ مثال ذلك مادة البنتونيت *bentonite*، أو الكربون المنشط *activated carbon*. ويستعمل هذا الإنزيم في إنتاج محاليل الفركتوز الفائقة الحلاوة، وفي إعداد كثير من الأغذية المحتوية على سكروز؛ ومثال ذلك الحلوى ذات القلب الرخو.



شكل (٦٤) : فطر الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*.

نمو الفطر على بيئة أجار مستخلص المولت بعد ثلاثة أيام تحضين.

أ - سلالة (CBS 1171).

ب - سلالة (CBS 1395).

سابعاً : إنتاج الليبيدات والأحماض الدهنية : Lipids and fatty acids

يطلق على الأحياء الدقيقة المنتجة للزيوت بكمياتٍ معنويةٍ مصطلح "oleaginous" (Ratledge, 1989)، ولكن يجب أن يكون محتوى مثل هذه الأحياء الدقيقة حوالي ٢٥٪ من الزيت على الأقل حتى يصبح الإنتاج تجارياً.

وتنمى الفطريات المنتجة للزيوت *oleaginous fungi* في بيئةٍ تحتوي على مصدرٍ كربونيٍّ، ولكن يجب أن يؤخذ في الحسبان توفر العناصر الغذائية الأخرى، وخاصةً المركبات النيتروجينية؛ حتى يمكن الحصول على إنتاج عالٍ من الزيوت. ويؤدي استهلاك العناصر الغذائية الموجودة بقليةٍ في بيئة نمو الفطر إلى تثبيط تخليق البروتينات والأحماض النووية الفطرية، بينما يستمر تخليق الدهون.

ويمكن إجراء عملية التخمير لإنتاج الدهون **Fat-producing fermentation**؛ وذلك بإنماء الفطر المستخدم؛ سواء على دفعاتٍ، أم بإنمائه بطريقةٍ مستمرةٍ **batch or continuous culture**. وتعتبر كفاءة إنتاج الدهون بواسطة الأحياء الدقيقة منخفضةً بصفةٍ عامةٍ؛ حيث تتراوح بين ٢٢٪ و ٢٤٪؛ وعلى ذلك فإن المحتوى الأمثل للزيت الذي يمكن إنتاجه حوالي ٤٠٪.

وهناك مدى عريض من الأحياء الدقيقة المنتجة للزيت، إلا أن هناك أنواعاً محددةً يمكنها إنتاج زيتٍ عالي الجودة وبروتينٍ ميكروبيٍّ في الوقت نفسه؛ مما يعطي هذه الأحياء الدقيقة ميزةً نسبيةً إضافيةً.

ولقد تم تقييم كلاً من الفطريات الهيفية filamentous fungi والخمائر yeasts من ناحية قدرتها على إنتاج الزيوت (جدول ٢٠).

جدول (٢٠) : إنتاج الليبيدات من الخمائر (عن Wainwright, 1992)

نوع الخميرة	النسبة المئوية للوزن الجاف	المادة المستخدمة في النمو
١ - خميرة <i>Candida guilliermondii</i>	٣٠	الكائنات غير الحلقية
٢ - خميرة <i>Candida sp. no. 107</i>	٤٢	جلوكوز
٣ - خميرة <i>Cryptococcus terricolus</i>	٦٥ - ٥٥	جلوكوز
٤ - خميرة <i>Hansenula ciferrii</i>	٢٢	مولاس
٥ - خميرة <i>Lipomyces lipofer</i>	٤٨	بيت موس محلل مائياً
٦ - خميرة <i>L. starkeyi</i>	٣١	لاكتوز
٧ - خميرة <i>Rhodotorula gracilis</i>	٤٠	مولاس
٨ - خميرة <i>R. gracilis</i>	٦٧	عصير القصب

وتحتوى الليبيدات المستخلصة من خلايا الخميرة على ثلاثى اسيل الجليسرولات triacylglycerols، وهو نفس المركب الأساسى فى الزيوت النباتية. ومن أهم الأحماض الدهنية fatty acids الموجودة فى الخمائر من ناحية وفرتها حمض الأوليك oleic، والپالميتيك palmitic، واللينولينيك linolenic، والستياريك stearic. وتشابه هذه الأحماض الدهنية مع تلك الموجودة فى النباتات.

وتتعدد أنواع الفطريات المنتجة للزيوت oleaginous fungi فى الفطريات الهيفية، عنها فى الخمائر، كما تنتج هذه الفطريات الهيفية أنواعاً متعددة من الليبيدات والأحماض الدهنية. وتتميز بعض أنواع فطريات العفن moulds بمحتواها من الأحماض الدهنية ذات السلسلة القصيرة short-chain fatty acids (يتراوح عدد ذرات

الكربون بها بين ١٢ ذرة كربون و ١٤ ذرة كربون) بنسبة عالية، بينما هناك أنواع أخرى من هذه الفطريات تحتوى على مستويات عالية من الأحماض الدهنية المعقدة غير المشبعة *polyunsaturated acids*.

وتحتوى بعض أنواع الفطريات على زيوت غير مألوقة، تستخدم كمصدر للأحماض الدهنية الأساسية المستخدمة في نظم إنقاص الوزن *dietary essential fatty acids* فعلى سبيل المثال، يستعمل الفطران *M. isabellana*, *Mucor javanicus* في إنتاج الأحماض الدهنية المعقدة غير المشبعة ذات الأهمية في إنقاص الوزن؛ مثل حمض جامالينوليك *linoleic acid* - لا وهو المكوّن الأساسى لزيت نبات زهرة الربيع *evening primrose oil*؛ والذي يوصف لمساعدة النساء التى تعاني آلام ما قبل الطمث *premenstrual tension*.

ولقد أمكن إنتاج هذا الزيت على نطاق واسع باستعمال بيئة دكستروز عجيبة البطاطس *potato - paste dextrose* لنمو الفطر المستخدم في الإنتاج. كما أمكن إنتاج حمض *isosapentaenoic acid* - الذى يوجد بصورة رئيسية في زيت السمك - وذلك عن طريق عزله من الفطر *Mortierella alpina*، حيث ينتج حوالى ٢٠٪ من إجمالى الأحماض الدهنية المنتجة.

ويمكن الاعتماد على الخمائر كمصدر اقتصادي للدهون المشابهة لزبدة الكاكاو *cacao butter - like fats*؛ حيث تعتبر زبدة الكاكاو من أغلي الزيوت والدهون المعروفة. ويمكن إنماء الخميرة *Candida curvata* على مخلفات مصانع الأغذية؛ مثال ذلك شرش اللبن *whey*. وعند استخدام سكر اللاكتوز، يتم إنتاج زيت ثلاثي الجلسريد *triglyceride oil*.

وعند تعديل خطوات الإنتاج، يمكن حث هذه الخميرة على إنتاج كميات كبيرة من حمض الإستياريك *stearic acid*؛ الذي يستخدم بديلاً لزبدة الكاكاو في إنتاج مستحضرات التجميل *cosmetics* والحلويات *confectionery*.

ولقد أدى انخفاض السعر العالمى لزبدة الكاكاو خلال العقد الأخير - إلى أدنى حدٍ - إلى عدم الاهتمام بإنتاج حمض الإستياريك بواسطة فطريات الخميرة، إلا أن ارتفاع أسعار زبدة الكاكاو فى المستقبل سوف يجعل إنتاج الأحماض الدهنية بواسطة الخمائر ذا قيمة اقتصادية عالية.

وتعتمد فسيولوجيا تخليق الخمائر للدهون أثناء نموها على تراكم هذه المواد الدهنية فى خلايا الخميرة؛ عند نموها فى بيئة غذائية تحتوى على كمية وفيرة من مصدر كربونى، مع نقص فى أحد العناصر الهامة؛ مثل الفوسفور، أو الكبريتات، أو الحديد؛ ومن ثم يبدأ تخزين الدهون مع نهاية طور النمو.

وعلى العكس مما سبق، يمكن لبعض الفطريات إنتاج الدهون وتخزينها فى هيفاتها طوال مرحلة النمو، كما هى الحال فى فطر الخميرة *Cryptococcus terricolus* والفطر الهيفى *Rhizopus arrhizus*.

وتحتوى الليبيدات التى تخلقها الفطريات على نحو ٧٠٪ - ٨٠٪ جلسريدات ثلاثية، والباقى عبارة عن ستيرولات - مثل الأرجسترول *ergosterol* - وأسترات الستيرولات، بالإضافة إلى ليبيدات قطبية بنسبة ٥٪ - ٨٪، كما تحتوى هذه الليبيدات على قليل من الجليكوليبيدات *glycolipids* فى بعض الأحيان.

ويتم التحكم فى نوعية الأحماض الدهنية المكونة لليبيد؛ وذلك تبعاً لنوعية مصدر الكربون فى بيئة نمو الفطر، والظروف البيئية. ولكى تقوم الخلية بإنتاج منتج ثابت يجب توفير مكونات غذائية ثابتة، وأن يكون نمو الفطر تحت ظروف بيئية غير متغيرة.

فعلى سبيل المثال، وجد أن نقص الأكسوجين يؤدى إلى نقص تكوين الأحماض الدهنية غير المشبعة فى دهون فطرى الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* و *Candi-da utilis*.

وعلاوة على ذلك، فلقد وجد أن بعض الفطريات يمكنها إنتاج أحماضٍ دهنيةٍ خاصة؛ مثل حمض الإديبيك *adipic acid*، وحمض الأزيليك *azelic acid* - وهي من الأحماض الثنائية الكربوكسيل - وذلك من الالكانات؛ كما هي الحال في فطرَي الخميرة *C. guilliermondii* و *Candida tropicalis*.

ثامناً : إنتاج الجبرلينات Gibberellins :

تعتبر الجبرلينات أحد النواتج الثانوية للتمثيل الغذائي للفطريات *fungi secondary metabolites*، كما توجد الجبرلينات كهرمون نباتي. وللجبرلينات أهمية بالغة في التقنيات الحيوية؛ نظراً لصفاتها في تشجيع النمو.

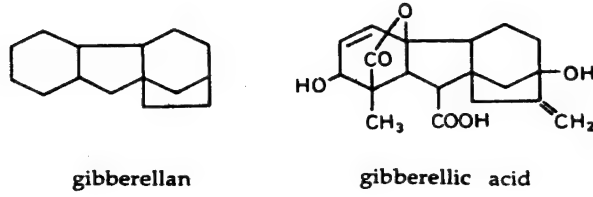
ويمكن عزل الجبرلينات من بذور الفاصوليا غير الناضجة، وأيضاً من بعض أجزاء النبات الأخرى، إلا أنها تنتج - أيضاً - باستعمال الفطر *Fusarium moniliforme*، وهو أحد الفطريات الناقصة، وطوره الكامل هو الفطر الأسكى *Gibberella fujikuroi*، ويمكن لهذا الفطر إنتاج المضاد الحيوى *bikaverin* بالإضافة إلى إنتاجه للجبرلينات.

١- إنتاج الجبرلين وحمض الجبرليك :

يعتبر الفطر السابق أحد الفطريات الممرضة للنبات؛ حيث يصيب بادرات الأرز؛ مسبباً لها أعراضاً مميزة؛ حيث تستطيل السلاحيات، ثم يموت النبات خلال مراحل نموه الأولى. وتتميز بعض سلالات الفطر *F. moniliforme* بإنتاجها للجبرلين *gibberellin*، والذي يطلق عليه حمض الجبرليك *gibberellic acid*، أو جبرلين أ₃ *gibberellin A₃*. وتنتج النباتات خمسة أنواع فقط من الجبرلينات، بينما تنتج الفطريات حوالي أربعين نوعاً أخرى منه.

ونظراً لقدرة الجبرلين على زيادة إنتاج إنزيم الأميلاز *amylase*، فإنه يستخدم أحياناً خلال مرحلة إنبات حبوب الشعير في صناعة المولت *malting*. ويتم الحصول على حمض الجبرليك عن طريق إنماء الفطر *F. moniliforme* على مادة تحتوى على

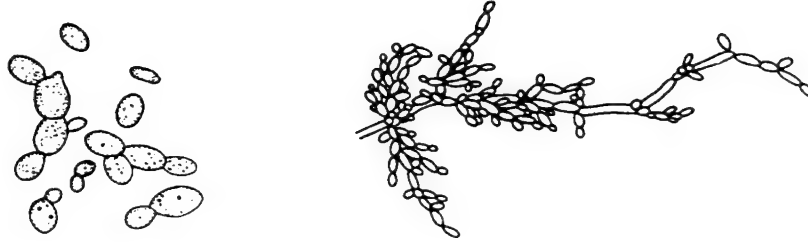
مخلوط من المواد الكربوهيدراتية وقليل من المواد النتروجينية، ويمكن إضافة glycerol لزيادة إنتاج حمض الجبرليك.



شكل (٦٥): تركيب الجبريلان وحمض الجبرليك.

وتتم عملية إنتاج الجبرلينات بالمراحل الآتية:

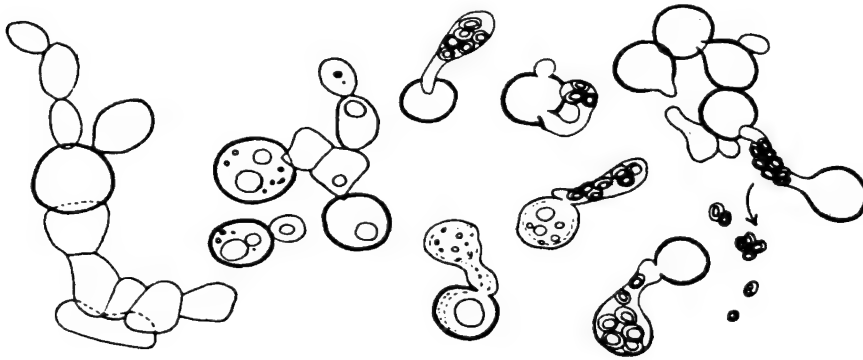
- ١- الطور اللاجى.
 - ٢- طور النمو، ويستمر نحو ٢٤-٣٦ ساعة؛ دون تحديد لمصدر النتروجين، ويكون إنتاج الجبرلينات أثناء هذا الطور منخفضاً.
 - ٣- مرحلة تحديد كمية الجليسين؛ وفيها ينخفض معدل نمو الفطر، ويكون إنتاج الجبرلين بطيئاً.
 - ٤- مرحلة غياب الجليسين؛ وفيها يحدث هدم للجلوكونز، ويزيد إنتاج الجبرلين.
 - ٥- مرحلة تركيز الجلوكونز صفر؛ وفيها يقل تراكم الجبرلين.
 - ٦- مرحلة تحلل الخلايا وزيادة رقم الحموضة.
- ولذلك فإن تركيز النتروجين (أقل من ٠,٢٪) ووجود عدة مصادر للكربون فى البيئة من أهم العوامل المحددة لإنتاج الجبرلين.
- وتصل إنتاجية الجبرلين إلى ١-٢ جم/ لتر بعد ١٢٠-١٥٠ ساعة تخضين على ٢٥°C.



نمو الفطر على بيئة الجلوكوز
ومستخلص الخميرة والبيتون

نمو الفطر على بيئة آجار دقيق الذرة

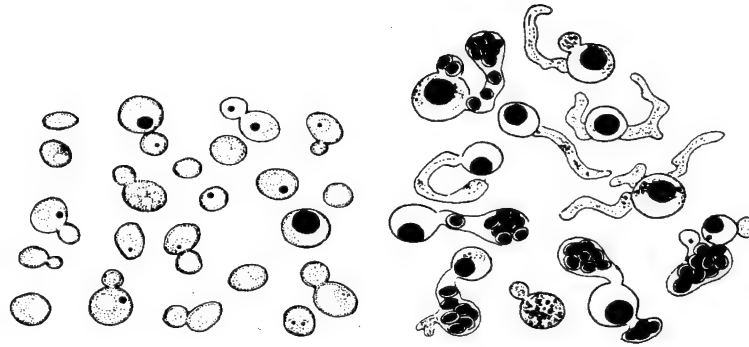
شكل (٦٦) : فطر الخميرة *Candida guilliermondii*.



نمو الفطر في بيئة آجار مستخلص الخميرة
والمولت (YM- agar) السائلة

نمو الفطر على بيئة آجار ايثانول شتاركى
(starkeys - ethanol agar)

شكل (٦٧) : فطر الخميرة *Lipomyces lipofer*.



نمو الفطر في بيئة مستخلص المولت السائلة

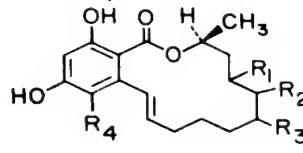
نمو الفطر على بيئة آجار إيثانول شتاركى
(starkeys - ethanol agar)

شكل (٦٨) : فطر الخميرة *Lipomyces starkeyi*.

٢- إنتاج الزيرالينون zearalenone :

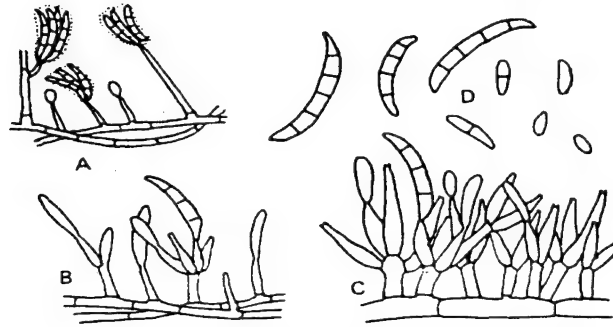
الزيرالينون ومشتقاته من المركبات التي لها نشاط هرموني استروجيني **estrogenic activity** . ويوضح شكل (٦٩) التركيب العام لهذا المركب. ويستخدم الزيرالينون في زيادة نمو الأغنام وغيرها من حيوانات المزرعة **anabolic growth stimulator** .

وينتج هذا المركب بواسطة الفطر *Gibberella zea* ؛ وهو الطور الكامل لفطر *Fu-sarium roseum graminearum* وتتم مراحل الإنتاج بواسطة التنمية في مزارع مغمورة في أوعية حجمها ٨٠ متراً مكعباً، وتصل الإنتاجية إلى ٣٠ جراماً/لتر بعد فترة تخضين ٢١ يوماً على درجة ٢٣°م.



	R_1	R_2	R_3	R_4
Zearalenone	H_2	H_2	$=O$	H
Zearalenol	H_2	H_2	OH	H
6',8'-Dihydroxyzearalene	OH	H_2	OH	H
8'-Hydroxyzearalenone	OH	H_2	$=O$	H
7'-Dehydrozearalenone	H	H	$=O$	H
5-Formylzearalenone	H_2	H_2	$=O$	CHO

شكل (٦٩) : تركيب الزيرالينون zearalenone ومشتقاته.



شكل (٧٠) : الفطر *Fusarium roseum graminearum*.

A - هيفات تحمل حوامل كونيدية.

B - حوامل كونيدية مختلفة.

C - وسادة جرثومية sporodochium تتكون من حوامل كونيدية متفرعة.

D - كونديات صغيرة وكبيرة.

تاسعا: إنتاج الفيتامينات Vitamins :

استخدمت فطريات الخمائر منذ سنوات مضت كمصدرٍ للفيتامينات الغذائية الخام crude dietary vitamins؛ وذلك تحت أسماء تجارية؛ مثال ذلك: مارميت Marmite في المملكة المتحدة، وفيجيميت Vegemite في أستراليا.

ولقد أمكن إنتاج فيتاميناتٍ أخرى بصورة تجارية من الخمائر، وأيضاً كنواجز ثانوية من التخمر (جدول ٢١). فعلى سبيل المثال، تنتج الخميرة *Pichia guilliermondii* الريبوفلافين riboflavin عند إنمائها على الهيدروكربونات الأليفاتية aliphatic hydrocarbons.

جدول (٢١) : الفيتامينات المنتجة من فطريات الخمائر.
(عن Wainwright, 1992)

الإنجاز (ملجم / لتر)	الفيتامين المنتج	اسم الخميرة
٦٤٢٠	ريبوفلافين	١ - الخميرة <i>Ashbya gossypii</i>
٥٦٧	ريبوفلافين	٢ - الخميرة <i>Candida flareri</i>
٢٤٨٠	ريبوفلافين	٣ - الخميرة <i>Eremothecium ashbyii</i>
لم تقدر	ريبوفلافين	٤ - الخميرة <i>Pichia guilliermondii</i>
٣٠٠٠	أرجسترو	٥ - الخميرة <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
لم تقدر	كاروتين	٦ - الخميرة <i>Rhodotorula sp.</i>

١- إنتاج الريبوفلافين Riboflavin :

هناك ثلاث تقنيات مختلفة تتبع لإنتاج الريبوفلافين، الأولى عن طريق التخليق الكيميائي - وهي تمثل نحو ٢٠٪ من الإنتاج العالمي - ويستخدم الريبوفلافين الناتج في إنتاج الأدوية. والثانية عن طريق التحول الحيوي *biotransformation*؛ حيث يتم تحويل الريبوز بطريقة كيميائية إلى ريبوفلافين، وتمثل هذه الطريقة حوالي ٥٠٪ من الإنتاج العالمي.

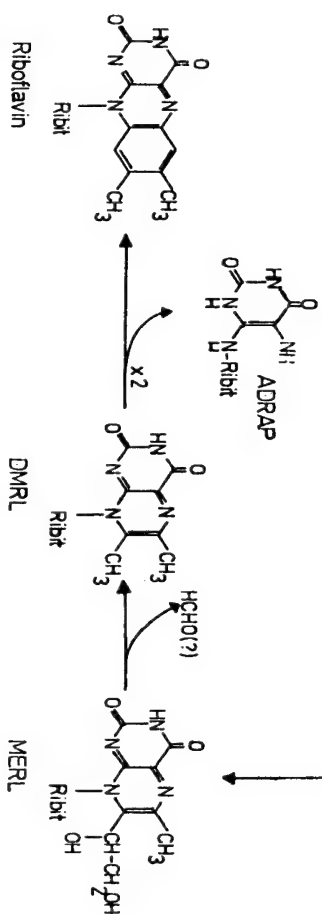
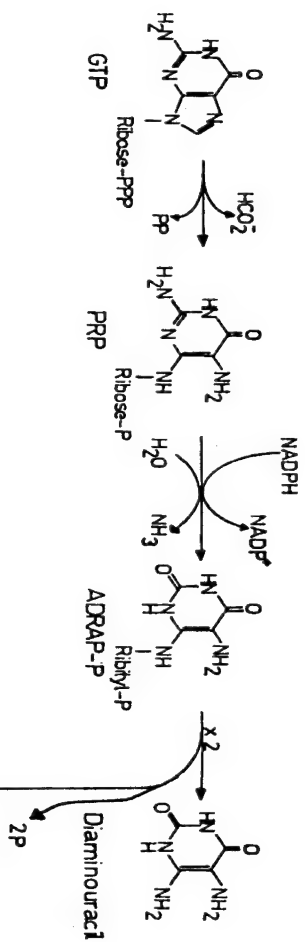
وتعتمد التقنية الثالثة في إنتاج الريبوفلافين على فطريات الخميرة بطريقة مباشرة؛ وهي تمثل نحو ٣٠٪ من جملة الإنتاج العالمي الذي يصل إلى ٢٠٠٠ طن سنوياً، ومن أكثر فطريات الخميرة استخداماً في الإنتاج التجاري للريبوفلافين *Ashbya gossypii* والتي يصل إنتاجها إلى ١٠ جرامات - ١٥ جرام لكل لتر بيئة.

وتستخدم لتنمية هذه الخميرة بيئة تحتوي على سكر الجلوكوز؛ حيث يضاف إلى السائل المتخلف عن صناعة نشا الذرة *corn-steep liquor*. وقد تستخدم الليبيدات - أحياناً - كمصدر للطاقة.

وعلى ذلك، فإن البيئة المستخدمة في الإنتاج التجاري للريبوفلافين تتكون من ٢,٢٥٪ مخلف صناعة نشا الذرة، ٣,٥٪ بيتون، ٤,٥٪ زيت فول الصويا. وقد يضاف بيتون أو جليسين أو مستخلص خميرة أثناء نمو الفطر؛ وذلك للمساعدة على زيادة الإنتاج. وفي بعض الحالات قد يضاف جلوكوز أو أينوزيتول.

وتستخدم مزرعة نشطة من فطر الخميرة *Ashbya gossypii* عمرها ٢٤-٤٨ ساعة؛ كمادة لقاح أولي (بإحدى)؛ حيث يستعمل هذا اللقاح بمعدل ٠,٧٥ - ٢٪، ثم يتم التحصين تحت ظروف هوائية على حرارة ٢٨°م لمدة سبعة أيام.

ويتكون الريبوفلافين في البيئة السائلة التي ينمو فيها فطر الخميرة، وأيضاً داخل الخلايا الفطرية. وللحصول على الفيتامين المتكون داخل خلايا الفطر، تتم معالجة الخلايا حرارياً على ١٢٠°م لمدة ساعة، وبعد ذلك تستبعد خلايا الفطر بالترشيح، ثم ينقى الريبوفلافين.



GTP, Guanosine triphosphate; PRP, 2,5- Diamino-6- keto-4- (5'- phos-
phoribosylamino)- pyrimidine; ADRAP, 5-Amino- 2,5-dioxy-4- (5'-
phosphoribitylamino)- pyrimidine; MERL, 6-Methyl-7- (1',2'- dity-
droxyethyl)- -8- ribityllumazine; DMRL, 6, 7-Dimethyl -8- ribitylluma-
zine.

شكل (٧١) : التخليق الحيوي للريبوفلافين.

ويمكن إنتاج الريبوفلافين بتنمية الفطريات على الهيدروكربونات كمصدر للكربون؛ حيث يستخدم لذلك أحد نوعي فطر الخميرة *Pichia miso* أو *P. guillieromondii*. كما يمكن إنتاج هذا الفيتامين - أيضاً - بتنمية الفطر *Hansenula polymorpha* على الميثانول، وكذلك بتنمية فطر الخميرة *Saccharomyces* على الخلايا كمصدر وحيد للكربون.

٢- إنتاج الكاروتينويدات Carotenoides :

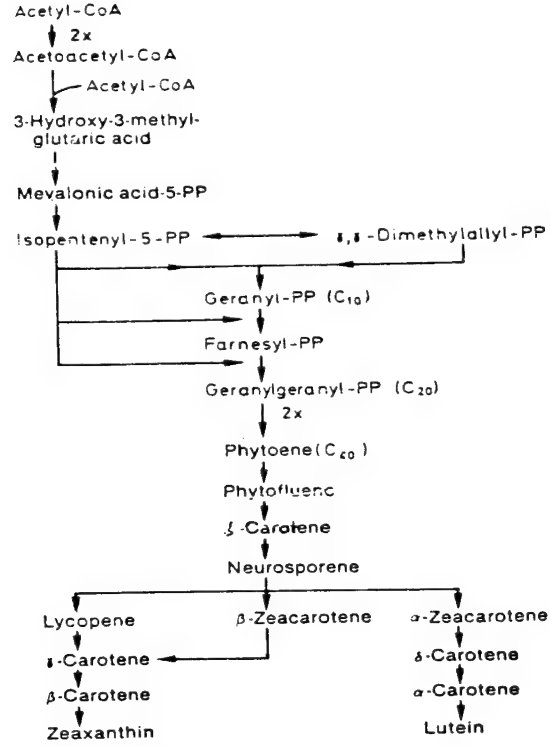
تستخدم فطريات الخمائر - أيضاً- على نطاق تجاري واسع في إنتاج الكاروتين *carotene*، والأرجسترول *ergosterol*، وأيضاً في إنتاج المواد المكونة لفيتاميني أ ، د (precursors of vitamins A,D).

وكذلك الحال في فطر الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* ، فإنه يمكن حثها على إنتاج أكثر من ١٠٪ من الوزن الجاف لخلاياها من مادة الأرجسترول.

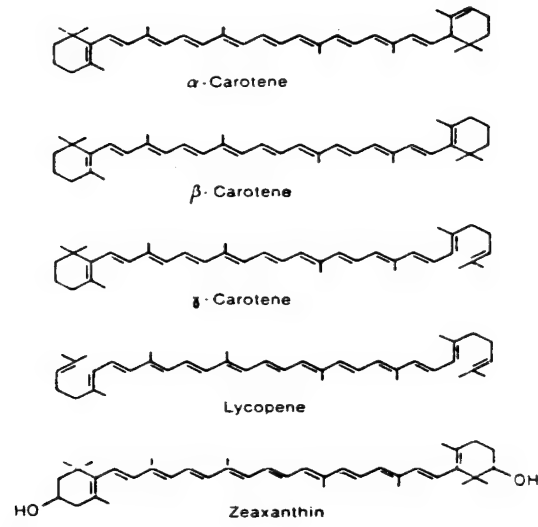
وتستخدم الكاروتينويدات في تلوين الأغذية؛ مثل المارجرين، والجبن، ومنتجات البيض واللحوم، ويبلغ الاحتياج العالمي للبيتا كاروتين - على سبيل المثال - إلى نحو ١٠٠ طن سنوياً؛ حيث تستخدم كألوان غذائية. ويوضح شكل (٧٢) مراحل تخليق الكاروتينويدات التي يمكن إنتاجها بواسطة التخمرات، وقد تم الحصول على الإنتاجية القصوى لهذه المركبات بواسطة الفطر *Blakeslea trispora* ، وقد وجد أن إنتاج الكاروتينويدات يحدث أثناء تكوين الجراثيم الزيجية.

ويتم استبداء الانتاج في وجود أحماض التراي سبوريك *trisporic acids* (شكل ٧٤) في وجود السلالتين الموجبة والسالبة. ولا يعتبر حمض التراي سبوريك قاعدة للبيتاكاروتين، لكنه يعمل كرمون جنسي (*gamones* (+))؛ ولذلك يتم الإنتاج بالتخمر العميق في وجود السلالتين (-) و (+) اللتين يجب أن تكونا متساويتين في العدد. وتقوم السلالة (-) بإنتاج البيتاكاروتين. ونتيجة للثبات المنخفض

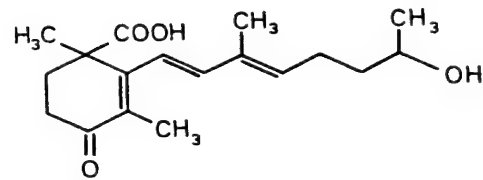
للبيتاكاروتين تضاف مواد مضادة للأكسدة أثناء التخمر، يتم بعد ذلك استخلاص البيتاكروتين من النمو الفطري (الكتلة الحيوية biomass) باستخدام الميثانول أو كلوريد الميثيلين، ثم تستكمل التنقية بعد ذلك.



شكل (٧٢) التخليق الحيوي للكاروتينويدات Carotenoides



شكل (٧٢) : تركيب بعض الكاروتينويدات التي يمكن انتاجها بواسطة التخميرات .

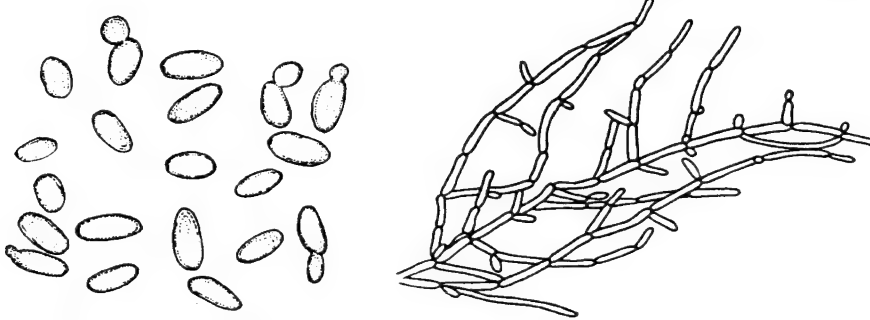


شكل (٧٤) : تركيب حمض تراى سبوريك Trisporic acid .

عاشراً : إنتاج الأحماض الأمينية Amino acids

يتزايد استخدام الأحياء الدقيقة فى إنتاج الأحماض الأمينية عن طريق التخمير. وتعتبر السلالات التابعة لفطر الخميرة *Rhodotorula* أكثرها فاعلية فى هذا الغرض. وهناك عديد من الأغذية - وخاصة تلك المصنعة من حبوب النجيليات - تكون فقيرة فى محتواها من الحمض الأميني ليسين *L. lysine*؛ لذا فإنه من المرغوب فيه البحث عن بديل رخيص الثمن لإنتاج هذا الحمض الأميني وغيره من الأحماض الأمينية الأخرى.

ويمكن استخدام حمض 2 - formyl - 2 - ketovaleric acid كمادة لإنماء فطر الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*، حيث ينتج عن النمو خلايا تحتوى على حوالى ٢٠٪ من الحمض الأميني ليسين، كما يمكن الحصول على هذا الحمض عن طريق إنماء فطر الخميرة *Torulopsis utilis* على محلول مخلفات صناعة الورق sulphite liquor waste.



نمو الفطر على بيئة أجار دقيق الذرة. نمو الفطر فى بيئة مستخلص المولت السائلة
شكل (٧٥) : فطر الخميرة *Torulopsis utilis*.

وينتج التريبتوفان tryptophan بواسطة سلالة من فطر الخميرة قريبة للغاية من الفطر *Candida tenuis* والفطر *C. parapsilosis*. بالإضافة إلى بعض سلالات الجنس *Hansenula* التي يمكنها إنتاج التريبتوفان عند إنمائها على مولاس بنجر السكر كبيئة للنمو، واستعمال حمض الانثرانيليك anthranilic acid كبيئة بادئة للتفاعل pre-cursor. وهناك فطريات أخرى تنتج هذا الحمض الأميني؛ مثل : فطر *Torulopsis utilis*، وفطر *Fusarium roseum*.

حادى عشر: إنتاج المحفزات الفطرية Fungal elicitors :

تعتبر المحفزات الفطرية مزارع لفطرياتٍ أو أحد مشتقاتها؛ مثال ذلك مكونات الجدر الخلوية cell wall components التى تعمل على حث مزارع الأنسجة النباتية على إنتاج بعض مواد التمثيل الغذائى.

وتستطيع الفطريات تكوين مركباتٍ جديدةٍ من خلايا النبات؛ حيث تستعمل - بصفةٍ عامةٍ - فى زيادة معدل تكوينها. ولقد زاد الاهتمام بذلك التأثير المشجع للفطريات على إنتاج الفيتوالكسينات phytoalexins فى خلايا النبات. وتنتج مثل هذه المركبات بواسطة النباتات النامية؛ حيث تعمل على مقاومة العدوى الفطرية؛ ولذلك فهى تناظر نظام المناعة فى الحيوانات، ولكنها أقل تعقيداً إلى حدٍ كبير. ويمكن استخدام الفيتوالكسينات كمبيداتٍ فطريةٍ طبيعيةٍ natural fungicides.

وهناك مدى واسع من المواد الكيموحيوية - بخلاف الفيتوالكسينات - تنتج بواسطة خلايا النبات فى وجود الفطر. وبعض هذه المركبات الكيميائية ذات استخداماتٍ مباشرةٍ قليلة، ولكن يهتم بها كإحدى وسائل البحث العلمى. ومن الأمثلة الممتازة لمثل هذه المركبات المشجعة مركب canthin - 6 - one؛ وهو قلويد alkaloid ينتج بواسطة نبات *Ailanthus altissima*.

وتنتج مزرعة الأنسجة من هذا النبات كمياتٍ بسيطةٍ من مشتقات مادة cathin 6-one. ويمكن حث الإنتاج عن طريق إضافة خلايا الخميرة ومستحضرات جدر خلايا الأنواع المختلفة من الفطر *Phytophthora*. وترجع أهمية مركب canthin 6-one إلى قدرته على تضاد النمو البكتيرى والنمو الفطرى، وأيضاً

مقاومته للتسمم الخلوى **cytotoxic activity**. وهناك مواد أخرى ناتجة عن التمثيل الغذائي للنبات يمكن تشجيع إنتاجها عن طريق الفطريات؛ مثال ذلك **monoterpene** **indole alkaloides**.

ثاني عشر : إنتاج اللقاحات الفطرية القاتلة للحشرات:

يصل عدد الفطريات المعروفة التي تصيب الحشرات نحو ٤٠٠ فطر؛ حيث تخصص معظم هذه الفطريات الممرضة للحشرات mycoentomopathogens في إصابة عوائلها الحشرية.

وتستخدم بعض هذه الفطريات بنجاح منذ فترة ليست بالقصيرة في مكافحة الحيوية للحشرات، ولكن كفاءة اللقاح الفطري في تأثيره على الحشرات إنما تتحدد في كمية اللقاح الفعال، ووقت الاستخدام، والظروف السائدة.

ويشترط في الفطر المراد استخدامه في مكافحة الحيوية للحشرات إمكانية إنتاج وحداته الممرضة بكميات كبيرة وسعر اقتصادي، وأن تكون المستحضرات التجارية منه ثابتة وفعالة، وقابلة للتخزين لفترات طويلة نسبياً. كما يجب أن يكون ذلك اللقاح الفطري ممرضاً للعائل الحشري المراد مكافحته بصورة جيدة ولفترة كافية.

ويتم إنتاج اللقاحات الفطرية المستخدمة في مكافحة الحيوية للحشرات - عادةً - على بيئة صلبة أو سائلة، وقد يتطلب الأمر تنمية هذه الفطريات أولاً على بيئة سائلة لتكوين اللقاح الأولى، ثم استعمال هذا اللقاح - بعد ذلك - لزراعة الفطر على مسطحات من بيئات صلبة لإنتاج جراثيم الفطر.

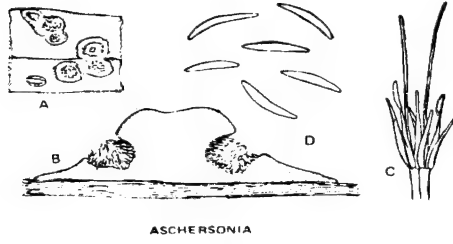
ويستعمل - عادةً - الآجار في تجهيز البيئات الصلبة التي ينمو عليها الفطر، إلا أن ذلك يكون مكلفاً في حالة الإنتاج التجاري؛ لذلك تستخدم حبوب بعض النباتات النجيلية - وأحياناً بعض المخلفات العضوية الرخيصة الثمن - في إنتاج لقاحات هذه الفطريات الممرضة للحشرات.

ويعيب استخدام هذه المخلفات العضوية في إنماء الفطريات السابقة، بطء نمو هذه الفطريات عليها؛ مما يجعل الوقت اللازم لإنتاج مثل هذه اللقاحات الفطرية طويلاً نسبياً. كما تتعرض هذه المخلفات العضوية للتلوث بعدد من الأحياء الدقيقة الأخرى؛ مما يؤثر في إنتاج لقاح الفطريات الممرضة للحشرات كماً ونوعاً.

جدول (٢٢) : أهم الفطريات المستخدمة في مكافحة الحويية للحشرات.

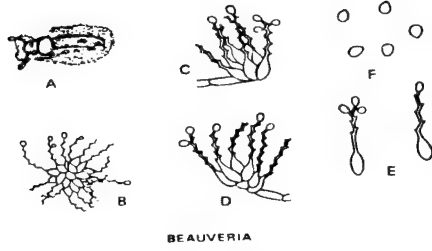
(عن Crueger & Crueger, 1990)

الدولة المنتجة	الوضع الإنتاجي	طريقة التتمة	الفطر
انجلترا، هولندا، روسيا	نصف صناعي	مزرعة مغمورة	<i>Aschersonia sp.</i>
روسيا	مسموح بتداوله تجارياً	مزرعة مغمورة - بيئة نصف صلبة	<i>Beauveria bassiana</i>
الولايات المتحدة	تحت التجارب	مزرعة مغمورة	<i>Conidiobolus obscurus</i>
انجلترا، فرنسا، الولايات المتحدة	نصف صناعي	مزرعة مغمورة	<i>Culcinomyces clavosporus</i>
استراليا	تحت التجارب	مزرعة مغمورة في الحشرات	<i>Entomophthora grylli</i>
الولايات المتحدة	تحت التجارب	مزرعة مغمورة وفي الحشرات	<i>Erynia neoaphidis</i>
انجلترا	تحت التجارب	نصف صلب	<i>Hirsutella thompsonii</i>
الولايات المتحدة	نصف صناعي	مزرعة مغمورة	<i>Lagenidium giganteum</i>
الولايات المتحدة	تحت التجارب	نصف صلبة	<i>Metarhizium anisopliae</i>
البرازيل	مسموح بتداوله تجارياً	مزرعة صلبة	<i>Nomurea rileyi</i>
الولايات المتحدة	تحت التجارب	مزرعة مغمورة	<i>Verticillium lecanii</i>
انجلترا	مسموح بتداوله تجارياً	مزرعة مغمورة	<i>Zoophthora radicans</i>
الولايات المتحدة	تحت التجارب العملية	مزرعة مغمورة	



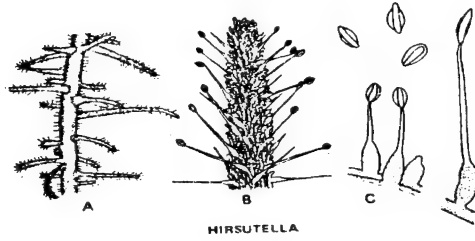
شكل (٧٦) : الفطر *Aschersonia aleyrodis*

- A = حشيات ثمرية *stromata* تنطى جليد الحشرة.
B = قطاع خلال حشية ثمرية والبكتيديات.
C = حوامل كونيدية.
D = كونيديات.



شكل (٧٧) : الفطر *Beauveria bassiana*

- A = حشرة خنفساء مصابة بالفطر.
B, C, D = تجمعات من الحوامل الكونيدية.
E = حامل كونيدى مفرد.
F = كونيدة.



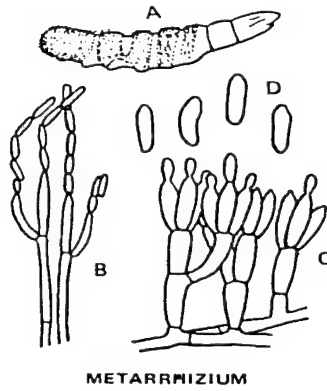
شكل (٧٨) : الفطر *Hirsutella saussurei*

- المرض للحشرات.
A, B = أجزاء من الضفائر الكونيدية - *syn-nemata*
C = قارورات *phialides* وكونيديات.

ولقد نشطت البحوث العلمية فى محاولات جادة لحل المشكلات الناجمة عن استخدام الفطريات فى مكافحة الحشرات حيويًا، والتغلب على عيوب هذه المستحضرات الفطرية التجارية.

ومن المجالات الهامة التى تتناولها مثل هذه البحوث بالدراسة، زيادة ثبات الوحدات الفطرية الممرضة للحشرات، وبقاؤها لفترة أطول محتفظة بحيويتها، وزيادة معدل إنبات الجراثيم بإضافة مواد مشجعة للإنبات، وعدم حدوث أية تأثيرات ضارة من هذه اللقاحات للنبات أو الحيوانات.

كما تفتح التقنيات الحديثة - المتبعة لتعديل صفات الفطريات الممرضة للحشرات - آفاقاً جديدة لإنتاج سلالات معدلة وراثياً من هذه الفطريات، قادرة على الفتك بالآفات الهامة الضارة بالإنتاج الزراعى؛ مثل: المن، والتريس، والذباب الأبيض، والحلم، وغيرها، بتكاليف محدودة وتلوث أقل للبيئة.



شكل (٧٩): الفطر *Metarrhizium anisoplae*

الممرض للحشرات .

A - الفطر متجشم على ورقة ميتة .

B, C - حوامل كونيدية تحمل كونديات فى سلاسل .

D - كونديات .

الباب التاسع

إنتاج الغذاء بواسطة الفطريات

إنتاج الغذاء بواسطة الفطريات

مقدمة :

يعتبر استخدام الفطريات في التصنيع الغذائي من أقدم الاستخدامات التي طُوِّع فيها الإنسان الكائنات الحية الدقيقة لخدمته، منذ أن عرف كيف يصنع رغيفاً من الخبز وقدرحاً من الجعة.

والخبز من أقدم الأطعمة التي صنعها الإنسان، ولعله الطعام الوحيد المشترك بين شعوب العالم القديم حتى يومنا هذا ونحن على أعتاب القرن الحادى والعشرين. ولقد عثر العلماء على آثار خبز مصنوع من دقيق خشن في سويسرا ترجع إلى العصر الحجري؛ حيث كان الإنسان البدائي يجمع حبوب القمح - وغيرها من الحبوب الأخرى - ويفتها، ثم يصنع منها خبزاً.

ولقد وُجِدَتْ داخل أهرامات الجيزة أكوام من الخبز الجيد التخمير، صنعت من دقيق الذرة الرفيعة. وهذا الخبز مستدير ومحدب؛ مما يدل على أنه تم خبزه على حجارة محدبة الشكل بعد تخميره. وكذلك وُجِدَتْ أنواع من الفطير غير المتخمّر؛ وذلك قبل ميلاد السيد المسيح بنحو ثلاثة آلاف سنة.

ويقول المؤرخ اليوناني هيرودوت Herodotus - المعروف بأبي التاريخ - أن المصريين القدماء نبغوا في صناعة الخبز نبوغاً تاماً ، ووصلوا بهذه الصناعة إلى أبعد حدود

الإتقان. وكان المصريون القدماء يصنعون الخبز من القمح أو الشعير أو الذرة الرفيعة، وعادةً من مخلوط هذه الحبوب، أما الخبز الأبيض المصنوع من دقيق القمح الخالص، فكان طعام الأغنياء فقط.

وتظهر على الآثار الفرعونية نقوش لأرغفة من الخبز المستدير، تتناثر على سطحها بذور صغيرة تشبه السمسم الذى نستعمله نحن حالياً فى صناعة الخبز الأفرنجى.

ومنذ ذلك الحين احتل الخبز مركزاً رئيسياً فى طعامنا اليومى. وإذا ألقينا نظرة على قائمة الأطعمة التى كانوا يضعونها مع الميت فى ذلك العهد الفرعونى القديم، وجدنا أن القائمة تضم نحو خمسة عشر نوعاً من أنواع الخبز المختلفة، ازدادت إلى نحو أربعين نوعاً فى الدولة الفرعونية الحديثة.

ويمكن تتبع مراحل صناعة الخبز من النقوش البارزة على مصاطب قدماء المصريين، فنجد أنه يتم سحق الحبوب فى هاون، ويأخذ الطحان مجروش الحبوب (الدشيش)، فيطحنه على حجر كبير وينخله، ثم تُحمى أطباق من الفخار فى النار، وتوضع فيها العجينة المصنوعة من الدقيق واللبن، وقد يضاف إليها العسل والزبد والبيض، بالإضافة إلى كُرّة من عجينة قديم تستعمل كبادىءٍ للتخمير.

وعلى الرغم من قدم صناعة الخبز - والتى تضرب بجذورها فى عمق التاريخ الإنسانى - إلا أن الإنسان لم يفتن إلى دور فطريات الخميرة فى هذه الصناعة الحيوية إلا من أمدٍ قريبٍ.

ولقد صاحب إنتاج الخبز فى الحضارات الإنسانية القديمة إنتاج الجعة (البيرة)؛ حيث كانت المشروب الشعبى لقدماء المصريين، وكانوا يطلقون عليها اسم «الخبز السائل». وصنعت الجعة المصرية - فى ذلك الوقت - من الشعير والقمح والبلح، وكانت أدوات صناعتها تتكون من قوالب تشبه تلك المستخدمة فى صناعة الخبز.



شكل (٨٠) : نموذج مصنوع من الحجر الجيري الملون لقزم يصنع الجعة (البيرة) ، يرجع هذا النموذج إلى الأسرة الخامسة .



شكل (٨١) : نموذج مصنوع من الخشب الملون ، يرجع إلى العصر المتوسط ، يمثل صناعة الخبز .

وتدل النقوش الفرعونية القديمة على أن المصريين القدماء كانوا يصنعون الخبز، ويخبزونه في قوالب من الفخار حول الموقد. وفي الوقت نفسه كانوا يجهزون عجينة خفيفة القوام تسمى «واجيت» (بمعنى الطازجة)، ويسكبونها في هذه القوالب الفخارية الشديدة الحرارة، والتي تبقى فيها لفترة قصيرة حيث تلفح الحرارة وجهى الرغيف، بينما يظل الباب الداخلي نيماً.

ويستعمل هذا الخبز غير الناضج في صناعة الجعة؛ حيث يقطع إلى فتات صغيرة، ويوضع في وعاء كبير، ثم يخلط بسائل سكري ناتج من نقع البلح، ويترك هذا الخليط ليتخمر، وبعد ذلك يصفى، ويحفظ في جرار فخارية صغيرة يتم إغلاقها بإحكام.

وكذلك عرف المصريون القدماء النبيذ، وكانوا يصنعونه من عصير العنب الذى كان يزرع في الدلتا. وبرع المصريون - حينذاك - في صناعة النبيذ؛ حيث أنتجوا منه أنواعاً مختلفة؛ مثل النبيذ الحلو (الطازج)، والنبيذ المصفى.

وكانت عناقيد العنب توضع في أوعية كبيرة من الحجر، ويأتى الرجال ويمسكون بحبال مدلاة من عارضة خشبية لحفظ توازنهم، ويدوسون العنب بأرجلهم على وقع الأناشيد وتصفيق الأيدي.

ويعبأ عصير العنب بعد ذلك في أوعية كبيرة حتى يتخمر بفعل فطريات الخميرة، ثم يترك ليتعتق في قدر فخارية طويلة ذات فوهات صغيرة يتم إحكام إغلاقها بواسطة كتلي من الجبس.

وعلى الرغم من الدور الحيوى الهام الذى لعبته فطريات الخميرة في صناعة الخبز والجعة والنبيذ في مثل هذه المجتمعات البشرية القديمة، فإن حقيقة هذا الدور لم تدركه البشرية في حينه، بل اعتقد القدماء المصريون أن ذلك منحة من الإله الأكبر أوزيريس Osiris للبشرية، ثم أظهر العلم الحديث - بعد ذلك بالآلاف السنين - دور فطريات الخميرة في هذه العملية الحيوية الهامة.

وبالإضافة إلى ما سبق الإشارة إليه من أغذية يتم إنتاجها بالتخمير منذ فجر التاريخ، فهناك عديد من الأغذية المتخمرة الأخرى؛ والتي مازالت تستخدم كغذاء شهي في شتى أنحاء العالم، سواء أكانت تنتج منذ آلاف السنين، أم بعد تطويرها وتحسين سبل إنتاجها.

فعلى سبيل المثال، تنتشر في مصر بعض الأطعمة المتخمرة ذات النشأة التاريخية القديمة؛ مثل تخليل الخضراوات والفاكهة، وصناعة الكشك، ولبن الزير، بينما تعرف في دول جنوب شرق آسيا وفي اليابان أطعمة أخرى؛ مثل التمبي *Tempeh*، والأنكوم *Oncom*، وأنجك *Ankak*، والميزو *Miso*، وصوص الصويا (الشويو) *Soy sauce*، وغير ذلك من منتجات غذائية متخمرة تدخل في صناعاتها الفطريات في شتى أنحاء العالم.

وتلعب الفطريات حالياً دوراً هاماً في مجال صناعة الأغذية المتخمرة، فقد يستخدم الفطر نفسه مباشرة في الصناعة؛ كما هي الحال في صناعة الجبن الروكفور *Roquefort*، والكاممبرت *Camembert*، والستلتون *Stilton*، والبراي *Brie*، والجاملوس *Gamlost*، أو قد يستخدم إنزيمات بعض هذه الفطريات أو نواتج تمثيلها الغذائي في صناعة أغذية أخرى أو مشروبات.

وبالإضافة إلى ما سبق، فإنه يمكن استخدام الكتلة الحيوية *biomass* للنموات الفطرية نفسها كغذاء للإنسان، يصنع منها أطعمة ذات محتوى عالٍ من البروتين الفطري *mycoprotein*. وحالياً يتم إنتاج البروتين الفطري تجارياً، ويعتبر في تحسين نكهة وقوام عديد من الوجبات الجاهزة السريعة التحضير.

وتتميز طبيعة النموات الفطرية بخلوها من الألياف، وسهولة هضمها. ويتم الإنتاج التجاري لمثل هذه الفطريات بإنمائها على مخلفات عضوية سائلة، مثل مخلفات صناعة الورق، أو مخلفات عضوية صلبة.

ويمكن لبعض الفطريات النمو على مخلفات عضوية سائلة ذات الحموضة العالية

التي تصل إلى ١ ، كما هي الحال في الفطر *Scytalidium acidophilum* . وينمو هذا الفطر على هذه البيئة دون منافسة غيره من الأحياء الدقيقة الأخرى التي يصعب نموها تحت هذه الظروف؛ حيث يكوّن الفطر كتلة حيوية هائلة تستعمل كغذاء.

ويتشابه إنتاج البروتين الفطري من الفطريات الهيفية مع إنتاج الخميرة، إلا أن بروتين الفطريات الهيفية يتميز بانخفاض محتواه من الأحماض النووية الريبوزية RNA، التي تزداد في فطريات الخميرة؛ نظراً لارتفاع معدل انقسامها ونموها. ولكن يجب أن يؤخذ في الحسبان - عند اختيار أحد الفطريات الهيفية لإنتاج البروتين الفطري - عدم تكوين هذا الفطر لأية مادة سامة (توكسينات)، أو مضادات حيوية، أو أية مادة أخرى غير مرغوبة ناتجة عن تمثيله الغذائي.

ولقد أمكن إنتاج بروتين فطري من الفطر *Fusarium graminearum* بصورة تجارية، واستخدم في تحسين القيمة الغذائية لبعض الأطعمة والمأكولات السابقة التجهيز، كما يضيف إليها طعم اللحم - على الرغم من خلوها منه - مما يجعلها شهية ومفيدة ورخيصة الثمن.

ويتميز الميسليوم الفطري بقدرته على مضاعفة كتلته الحيوية مرة واحدة كل ثلاث ساعات تقريباً؛ حيث ينمو على مخلفات عضوية سائلة تحتوي على مواد كربوهيدراتية. ومن المتوقع أن يسهم الإنتاج التجاري للبروتين الفطري إسهاماً فعالاً في سد الاحتياجات الغذائية البروتينية في دول العالم الثالث.

وهناك كثير من الدول المتقدمة التي اهتمت بإنتاج البروتين الفطري من الفطريات الهيفية، واستعماله في تجهيز الأطعمة، كما هي الحال في المملكة المتحدة التي يعرض فيها هذا البروتين تحت الاسم التجاري (Myco - protein) . ولقد لاقى هذا الغذاء رواجاً كبيراً بين جمهور المستهلكين، ليس فقط لتشابه طعمه ورائحته باللحم البقري، ولكنه أيضاً كغذاء صحي منخفض الطاقة (دايت)؛ نتيجة خلوه من الدهون الحيوانية والكوليسترول وانخفاض محتواه من الدهون المشبعة.

وعند مقارنة المحتوى البروتيني للبروتين الفطري باللحم البقري، نلاحظ انخفاض ذلك في البروتين الفطري، ولكن - على أية حال - يمكن مقارنة البروتين الفطري باللبن ومنتجاته.

ومن الفطريات الأخرى التي تستعمل كغذاء منذ الحضارات الانسانية القديمة الأنواع المأكولة من فطريات عيش الغراب mushrooms، والتي بدأت زراعتها تجارياً منذ القرن الماضي. ولقد زاد الاهتمام بزراعة بعض أنواع عيش الغراب في دول العالم الثالث على المخلفات العضوية الصلبة؛ وذلك لإنتاج غذاء بروتيني، وسوف نتناول ذلك لاحقاً بالتفصيل.

أولاً : صناعة الخبز:

يعود الفضل إلى قدماء المصريين فى صناعة الخبز الجيد التخمر وتسويته فى أفران؛ حيث انتقلت هذه الصناعة بعد ذلك - من خلال هجرة اليهود من مصر - إلى الدول الأخرى المحيطة بمصر؛ مثل اليونان، وإيطاليا، ومنها إلى بقية دول العالم.

ولقد عمد المصريون القدماء إلى إضافة جزءٍ من العجين المتخمر المأخوذ من عجائنٍ سابقة إلى العجين الحديث؛ حيث أدى ذلك إلى استمرار نشاط فطر الخميرة المستخدم، ونقله عبر أجيالٍ متلاحقةٍ من العجائن؛ وذلك لإنتاج خبز جيد الطعم.

واستمرت صناعة الخبز بنفس طريقة قدماء المصريين حتى بداية القرن التاسع عشر؛ حيث قام Gray-Lussac عام ١٨١٠ بوضع معادلةٍ توضح ماهية التخمر الكحولى الذى تقوم به فطريات الخميرة والمواد الناتجة من ذلك، والتي تلعب دوراً هاماً فى تحسين طعم وقوام رغيف الخبز الناتج.

وبعد ذلك بسنوات، أظهر عديد من العلماء - مثل Küntzig، و Schwann، و Cagnaird - Latour - أن عملية التخمر تتم نتيجةً لنمو خلايا جسدية لفطر ذى خلايا متبرعمة، أطلق عليه «Meyen عام ١٨٣٨» اسم فطر السكر "Saccharomyces".

واستمرت هذه النظريات تحاول تفسير دور الخمائر فى عملية التخمر، فى وقتٍ سادت فيه نظرية التوالد الذاتى التى تفترض نشأة الأحياء من مواد غير حية؛ حتى أثبت العالم الفرنسى الشهير «لويس باستير (1822 - 1895) Pasteur» دور الخمائر فى التخمر الكحولى والتخميرات اللاهوائية.

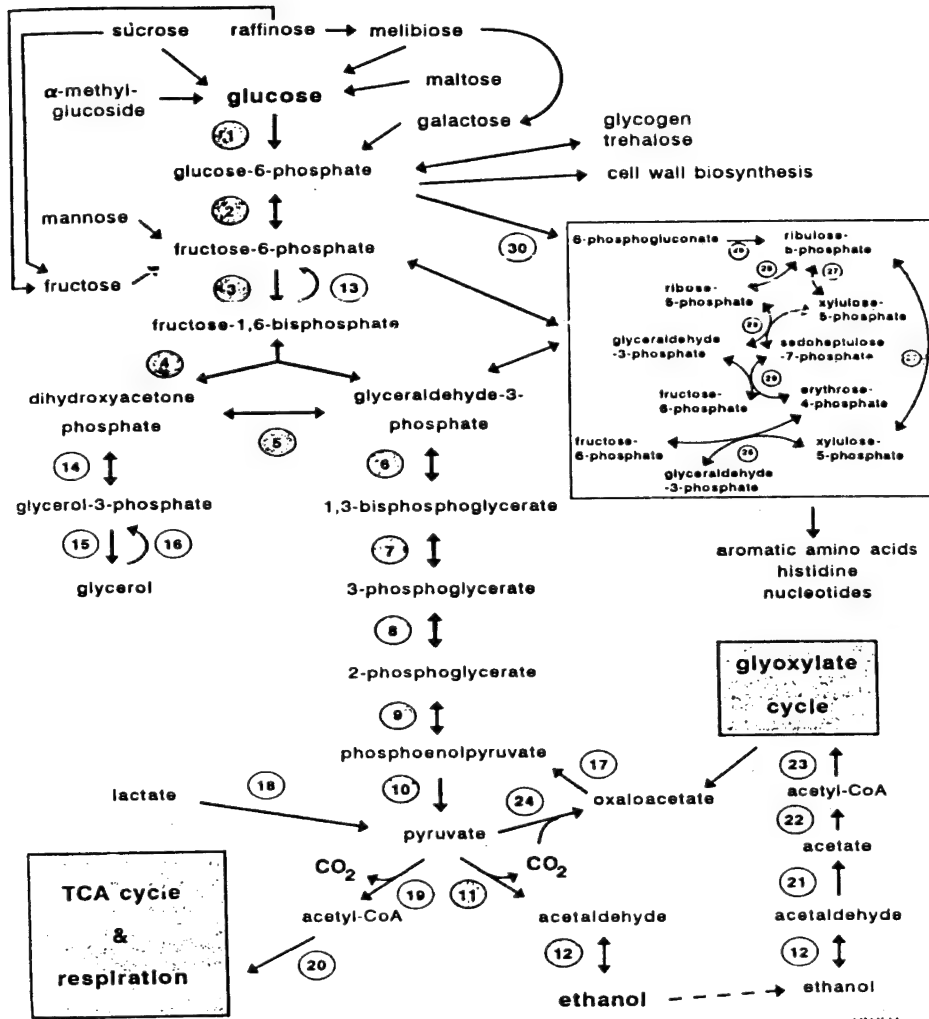
وفى معامل كارلسبرج Carlsberg فى كوبنهاجن (الدانمرك)، استطاع هانسن (1880) Hansen إنتاج كميات تجارية من خلايا الخميرة، ثم انتشر إنتاجها بعد ذلك فى عديد من دول العالم؛ مثل الدانمرك، وألمانيا، والمجر، وطُور إنتاجها.

ويوجد الآن عديد من الطرق المستخدمة فى إنتاج خميرة الخباز، وتنوعت أشكالها التجارية؛ مثل عجائن الخميرة المضغوطة compressed yeast، والخميرة الجافة النشطة active dry yeast، والخميرة الجافة النشطة لحظياً instant active dry yeast، وغير ذلك من أشكال تجارية أخرى.

وعلى أية حال، يجب أن تكون الخميرة المستخدمة فى صناعة الخبزة نشطة، وقادرة على النمو تحت الظروف الهوائية مخمرة - خلال نموها - الدقيق المستخدم فى عمل العجين؛ منتجة كمية كافية من غاز ثانى أكسيد الكربون؛ الذى يجعل قوام الخبز المصنوع إسفنجياً. كما يجب أن تظل هذه الخميرة محتفظة بصفاتها طوال فترة تخزينها.

وتقوم الخميرة - خلال نموها فى العجين - باستهلاك السكريات الموجودة فى الدقيق؛ منتجة خلال ذلك غاز ثانى أكسيد الكربون، وبعض المواد الكيميائية الأخرى كنواحي لتمثيلها الغذائي، كما تعمل الخميرة على تغيير شبكة الجلوتين، وهذا كله يعطى طعماً مميزاً للخبز.

وتشارك الإنزيمات الموجودة فى دقيق القمح - مثل إنزيم ألفا أميليز - فى تحليل جزء من النشا إلى سكريات، بالإضافة إلى أن دقيق القمح يحتوى على نحو ١-٢٪ سكريات؛ تبعاً لنوعية هذا الدقيق. وتتضمن هذه السكريات الجلوكوز، والفركتوز، والسكروز، والمالتوز، والرافينوز؛ بالإضافة إلى بعض السكريات التى يطلق عليها اسم «جلوكو فركتوزانات glucofructosans».



شكل (٨٢) : التمثيل الحيوي للكربوهيدرات بواسطة فطر الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*.
توضح الأشكال المربعة الدورات الحيوية التي تتم من خلال مسار دورة السكريات الخماسية المفسفرة.
وفيما يلي الإنزيمات المشتركة في هذا التفاعل:

1-12, glycolytic pathway enzymes 13, fructose- 1,6 biphosphatase; 14, glycerol- 3- phosphate dehydrogenase; 15, glycerol- 1-phosphatase; 16, glycerolkinase; 17, phosphoenolpyruvate, carboxykinase; 18. lactate dehydrogenase; 19, pyruvate dehydrogenase; 20,23, citrate synthase; 21, aldehyde dehydrogenase; 22, acetyl- CoA synthetase; 24, pyruvate carboxylase; 25, 6-phosphogluconate dehydrogenase; 26, ribose phosphate isomerase; 27, ribose phosphate epimerase; 28, transketolase; 29, transaldolase; 30, glucose - 6- phosphate dehydrogenase.

ويبدأ التخمير بتحليل الخميرة لسكريات السكروز والجلوكوز، وبلي ذلك تحليل الفركتوز. وفي أثناء نمو خلايا الخميرة واستهلاك هذه السكريات تكون إنزيمات أميليز الدقيق قد حللت جزءاً من النشا وأنتجت المالتوز، وحينئذ تبدأ الخميرة في تحليله وإنتاج غاز ثاني أكسيد الكربون.

ويمكن إيجاز طرق تصنيع الخبز فيما يلي:

- ١- خلط جميع المكونات، ثم إجراء عملية التخمير على دفعات.
 - ٢- يتم إجراء عملية التخمير على جزء من العجينة، ثم خلطها مع بقية العجينة.
 - ٣- الخلط المستمر للمكونات، وإجراء عملية التخمير ثم التقطيع، أو التخمير لقطع الخبز المقطعة بصورة نهائية.
 - ٤- التخمير السائل ؛ حيث يتم الخلط المستمر والتقطيع والتخمير المستمر على خط التصنيع.
- ويوضح شكل (٨٢) ملخص عمليات تمثيل الكربوهيدرات بواسطة فطر خميرة الخباز *Saccharomyces cerevisiae*.

ثانياً : إنتاج الأغذية المتخمرة طبيعياً :

تعتبر الأغذية المتخمرة طبيعياً من أقدم أنواع الأغذية المصنعة التى عرفها الإنسان؛ حيث قام بها الإنسان البدائي فى محاولة منه لحفظ غذائه لفترة أطول عن طريق تخمره طبيعياً. ومن أكثر الأصناف المستخدمة فى تلك الأغذية: الحبوب، والبقول، وبعض البذور الزيتية، إلا أن هذا لا يمنع من استخدام أصناف أخرى.

وبصفة عامة، تختلف نوعية الغذاء المتخمر وطريقة التخمر ونوعية الأحياء الدقيقة المشتركة فى التخمر باختلاف المنطقة الجغرافية من العالم، وظروفها الإنتاجية والاجتماعية والمعيشية؛ ومن هنا نجد أنواعاً متعددة من الأغذية المتخمرة طبيعياً، والتى تضم مئات الأنواع من منتجات الحبوب واللحوم والأسماك والبقوليات والألبان والخضراوات والفاكهة ونشا الذرة، وغير ذلك من منتجات لا حصر لها.

إلا أننا سوف نتعرض فى هذا الباب لبعض نماذج الأغذية التى يستخدم فى تخمرها أنواع معينة من الفطريات ؛ سواء الهيفية أم الخمائر.

١- مميزات الفطريات المستخدمة فى التخمرات الطبيعية :

أ- إفراز الإنزيمات التى تعمل على تحليل مكونات المادة الغذائية المستخدمة فى التخمر، سواء أكانت مادة بروتينية، أم كربوهيدراتية، أم دهنية. وتحول هذه المواد الغذائية بفعل الإنزيمات الفطرية إلى وحدات صغيرة، تتحول بعد ذلك إلى مركبات أخرى؛ مما يؤدي إلى تغير مظهر المادة الغذائية الخام وتركيبها وقوامها

وطعمها ولونها ونكهتها؛ مما يزيد من درجة استساغتها، ويصبح المنتج النهائي أفضل قبولاً لدى المستهلك.

ب- يؤدي نمو الفطريات إلى تغيير مظهر الغذاء؛ فعلى سبيل المثال يؤدي نمو الفطر *Rhizopus oligosporus* على سطح التيمبي *Tempeh* إلى نمو ميسليوم أبيض اللون مرغوب لدى المستهلك في صورته النهائية، كما يعمل نمو الميسليوم الفطري على ترابط بذور فول الصويا بعضها مع بعض في التيمبي؛ مما يجعله منتجاً متماسكاً في النهاية. وكذلك الحال في نمو ميسليوم الفطر *Neurospora intermedia* على كيك الأونكوم *Oncom*؛ حيث يغطي سطح المنتج بلوناً برتقالياً بنفسجياً مميزاً؛ نظراً لتكوين الفطر لكونيدياته.

ج- تفرز بعض الفطريات المستخدمة في إنتاج هذه الأغذية صبغات ملونة أثناء نموها على المنتج الغذائي؛ مثال ذلك الفطر *Monoascus purpureus*؛ الذي يفرز صبغة حمراء تعرف باسم "*monoascocabin*" أثناء تخمر الانجكاك *Angkak*.

د- يؤدي استخدام هذه الفطريات في تخمير الأغذية إلى زيادة قيمتها الغذائية؛ نظراً لارتفاع محتواها البروتيني إلى نحو ٧ - ١٠٪، وكذلك محتواها من الفيتامينات والأحماض الأمينية والدهنية، ومن الإنزيمات الهاضمة، وغير ذلك من مكونات مفيدة.

هـ- يؤدي نمو بعض الفطريات المستخدمة في تخمير الأغذية إلى زيادة تحملها للحفظ فترات طويلة دون فسادها أو تلوثها بالفطريات الضارة؛ فعلى سبيل المثال، وجد أن الأغذية التي يستعمل في إنتاجها الفطر *Rhizopus oligosporus* لا تحتوي على توكسينات فطرية، وخاصة الأفلاتوكسينات.

ليس هذا فقط، بل إن هذا الفطر يستطيع أن يحلل مثل هذه الأفلاتوكسينات التي قد تلوث بعض الأغذية؛ حيث تصل قدرته في تحليلها إلى نحو ٤٠٪. كما

تثبط النموّات الفطرية للفطر السابق نموّات الفطر *Aspergillus flavus* و *A. par-* *asiticus* المفروزة للأفلاتوكسينات؛ كما يثبط الفطر *R. oligosporus* إفراز بعض أنواع البكتيريا لتوكسيناتها؛ ومثال ذلك : بكتيريا *Pseudomonas cocovenans* المنتجة للتوكسوفلافين *toxoflavin* ؛ وهو مركب أصفر اللون يسبب تسمماً غذائياً.

و- تقوم الفطريات بخفض محتوى الغذاء من المواد الضارة غذائياً *antinutritional factors*؛ مثل مثبطات إنزيمات تحليل البروتينات *protease inhibitors*، واللكتينينات *lectins*، والتانينات *tannins*، والسكريات المسببة للانتفاخات *flatus producing sugars*، بالإضافة إلى المواد الرابطة للمعادن *metal binding agents*، والتي تعمل على إعاقة إمتصاص الجسم لمثل هذه المعادن.

وتستخدم مثل هذه المنتجات الغذائية في وجبة الإفطار، أو كمحسّنات للطعم أو النكهة (منكهات)، أو كمواد ملونة، أو كمشروبات، أو كأطباق رئيسية. وسوف نتعرض لبعض النماذج من منتجات فول الصويا المخمرة؛ والتي تناسب ذوق المستهلك في منطقة الشرق الأوسط.

٢- نماذج لبعض الأغذية المخمرة:

١- التمبي (Tempe (tempeh):

يعتبر التمبي من المنتجات المخمرة التي زاد الإقبال عليها في كثير من دول أوروبا والولايات المتحدة؛ حيث يعتبر غذاءً نباتياً بديلاً للحوم. ويصنع هذا المنتج أساساً من فول الصويا، إلا أنه يمكن صناعته من أنواع البقوليات المختلفة، وأيضاً من القمح أو الشعير، أو من خليطٍ منهما.

وينتج التمبي عن تخمر فلقات فول الصويا بعد إزالة القصرة وطهيها جزئياً؛ حيث يتكون كيك مغطى بنموّاتٍ هيفية بيضاء اللون للفطر *Rhizopus oligosporus* المستخدم في التخمر.

ويشبه التخمر الذى يحدث فى التمبى تلك التخمرات التى تحدثها بعض الفطريات المستخدمة فى تسوية الجبن؛ حيث يحدث أثناء التخمر تحلل للبروتينات والدهون والكربوهيدرات، وينتج عن ذلك طعم ونكهة قوية مرغوبة، خالية من الأمونيا.

والتمبى الطازج ذو طعم مقبول ورائحة تشبه ثمار عيش الغراب، وبعد قليه فى الزيت يكون طعمه حريفاً، ويشبه طعم البندق. وترجع هذا الحرافة إلى انفراد بعض الأحماض الدهنية. وفى العادة، يتم تقطيع التمبى إلى شرائح رقيقة، وتغمر فى صوص الصويا Soy sauce، أو فى محلول ملحي تركيزه ٥-١٠٪ قبل عملية القلى.

وعادةً ما يقوم المستهلك بقلّى شرائح التمبى المملحة فى الزيت مباشرة، أو قد تُتبّل فى خليطٍ من دقيق الأرز أو الذرة مع لبن جوز الهند، ثم تقلى فى الزيت بعد ذلك. وأحياناً، تغمر هذه الشرائح فى محلول التمر هندي المغلى.

وقد تقطع كيكة التمبى فى صورة مكعبات، ثم تستخدم هذه المكعبات كبديل للحم عند تجهيز شوربة الخضار؛ والتى تصنع من مكعبات البطاطس، وشرائح الفلفل الحار، وغير ذلك من الخضروات أخرى. كما يقوم بعض المستهلكين بسلق شرائح التمبى، ثم تشوى على النار وتؤكل مثل الهامبورجر.

ويقبل المستهلكون على المنتجات الغذائية المتنوعة المصنوعة من التمبى فى كثير من دول جنوب شرق آسيا؛ مثل إندونيسيا، وماليزيا، وسنغافورة، هذا إلى جانب عديد من دول أوروبا الغربية والولايات المتحدة.

وتتبارى بعض شركات الأغذية العالمية فى إنتاج مأكولات شهية من كيك التمبى، ويمكن تلخيص مراحل تصنيع التمبى فيما يلى:

* تغسل بذور فول الصويا - أو البذور الأخرى المستعملة - للتخلص من الشوائب العالقة بها، ثم تنقع فى الماء. وقد تزال قصرة البذور الجافة أولاً من خلال جرش البذور فى مطحنة ضخمة. وفى بعض الأحيان يتم نقع البذور لفترة قصيرة فى الماء، ثم تزال القصرة، إلا أن هذه الطريقة قليلة الاستخدام.

* بعد إزالة قصرة بذور فول الصويا، تنقع البذور المقشورة لمدة ساعتين في محلول حمض لاكتيك مخفف على ٢٥°م، أو لمدة نصف ساعة على حرارة ١٠٠°م. وفي أحيانٍ أخرى تنقع هذه البذور المقشورة في الحمض لمدة ٢٤ ساعة على درجة حرارة الغرفة؛ حتى تقوم البكتيريا بتكسير سكر الـ رافينوز والـ ستاكيوز المسئولين عن حدوث الانتفاخات المعوية الناتجة عن هضم المنتجات الغذائية المصنوعة من فول الصويا. وتؤدي زيادة الحموضة الناتجة عن تكسير السكريات السابقة إلى تشجيع نمو الفطر بعد ذلك.

* بعد انتهاء المرحلة السابقة، يتم طهي البذور المقشورة بعد نقعها في ماء درجة حرارته ١٠٠°م لمدة تتراوح بين عشر دقائق و ثلاث ساعات؛ حيث تؤدي هذه المعاملة إلى قتل الكائنات الحية الدقيقة التي نشطت خلال فترة نقع البذور. كما يؤدي تعرض البذور لدرجة الحرارة العالية إلى إتلاف مشبطات إنزيم التربسين، وأيضاً إلى توفير بعض المركبات التي يحتاج إليها الفطر في نموه. وبعد انتهاء هذه المعاملة تبرد البذور إلى حرارة ٣٧°م، ويتم التخلص من الماء المستخدم في الطهي (السلق).

* تفرد فلقات بذور فول الصويا المسلوقة في صوانٍ خشبيةٍ أو من الصلب غير القابل للصدأ بحيث يتراوح سمك الفلقات بين ٢ سم و ٣ سم؛ ثم تُلحَق بنموات الفطر *Rhizopus oligosporus* بمعدل ١-٣ جرامات من مسحوق التخمى الجاف المحتوى على الفطر لكل كيلو جرام بذور، وبعد ذلك يتم التحضين على حرارة ٣٧°م لمدة ١٨-٢٠ ساعة. وتُجَب تغطية الصواني - بما عليها من فلقات فول الصويا المسلوقة الملقحة بالفطر - بورق زبدية أثناء التحضين؛ وذلك بغرض تقليل فقد الرطوبة.

ويراعى توفير نسبة كافية من الرطوبة في فلقات فول الصويا؛ حتى نضمن نمواً جيداً للفطر المستخدم في إنضاجه. كما يجب توفير تهوية كافية ودرجة حرارة مناسبة؛ حيث إن ذلك يحدد نمو الفطر وجودة المنتج الغذائي النهائي.

وعند نهاية فترة التحضين تشاهد نموات ميسليومية بيضاء اللون تغطي سطح فلقات بذور فول الصويا المسلوقة وتتخللها؛ حتى تصبح هذه الفلقات متماسكة بعضها مع بعض. وفي هذه المرحلة يتم تقطيع كيكة التمثي إلى مكعبات صغيرة؛ أبعادها $2,5 \times 2,5$ سم.

وقد تعبأ مكعبات التمثي الطازجة، وتطرح للمستهلك مبردة أو مجمدة. وفي بعض الأحيان قد تجفف هذه المكعبات على حرارة 40°C ، ثم تعبأ في أكياس من البولي إيثيلين، وتباع.

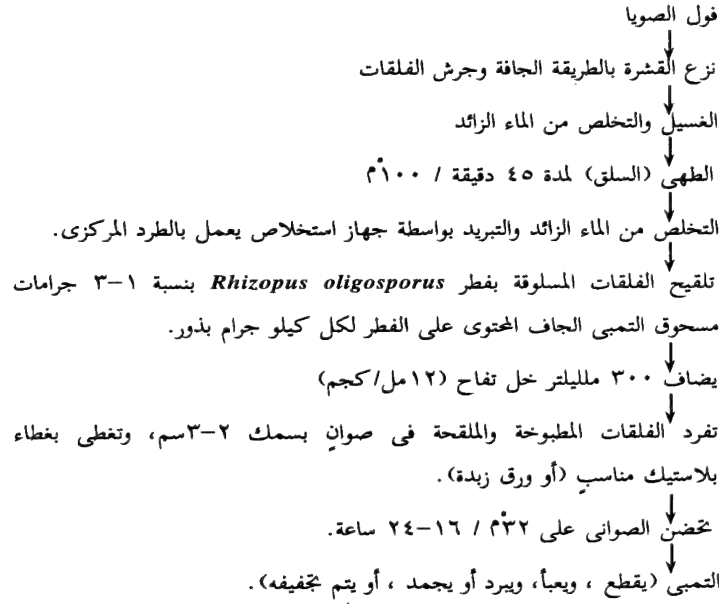
ويعتبر التمثي غذاءً شعبياً في دول جنوب شرق آسيا، وقد يتم تحضيره منزلياً باستخدام أوراق الموز، بدلاً من الصواني التي سبقت الإشارة إليها. وفي هذه الحالة تفرد فلقات بذور فول الصويا المسلوقة على أوراق الموز بعد غسلها، ثم تلقح بنموات الفطر *R. oligosporus*، وتغطي بأوراق موز أخرى نظيفة، وتحضن على درجة حرارة الغرفة.

ويؤدي نمو ميسليوم فطر *R. oligosporus* على فلقات بذور فول الصويا المسلوقة إلى تحليل المواد البروتينية والدهنية، وإنتاج مضادات الأكسدة؛ مما يكسب المنتج النهائي طعماً مقبولاً دون أن تزداد نسبة حموضته؛ وبذلك ترتفع القيمة الحيوية لبروتين فول الصويا، ويزداد محتوى المنتج الغذائي من الفيتامينات.

ويتم إعداد اللقاح الأولي (البادىء) من الفطر المستخدم في إنضاج التمثي في حالة صناعته منزلياً (الإنتاج الشغبي التقليدي)؛ وذلك عن طريق تجهيز عجينة من كيك التمثي السابق تجهيزه؛ والذي ينمو عليه الفطر *R. oligosporus*، ثم تجفف هذه العجينة - بعد فردها - تحت أشعة الشمس، وتصحن إلى مسحوق يحتوى على هيفات الفطر وجراثيمه.

وفي حالات أخرى، يتم إنماء الفطر على أوراق نبات الكرّكديه، أو على كيك الأرز، ويستعمل كبادىء. ويجب اتباع الوسائل الكفيلة بعدم حدوث تلوث بفطريات

أخرى أو بكتيريا ضارة؛ حيث يؤدي ذلك إلى عدم الحصول على المنتج المرغوب، وقد ينتج عن التلوث أخطار تهدد صحة المستهلكين.



شكل (٨٣) : طريقة صناعة التمثي تجارياً من بذور فول الصويا.

وقد يصنع التمثي باستخدام بذور لنباتات بقولية أخرى؛ مثل العدس أو الفاصوليا أو الترمس أو الفول البلدي. ولقد تمت صناعة التمثي في مصر باستخدام بذور الفول البلدي، ووجد أن خلط ناتج التخمر مع مخلوط مكونات الطعمية (البصل - البقدونس - الكزبرة - الكرات...) أعطى منتجاً عالي القيمة الغذائية، ونال قبول المستهلك المصري أكثر من نفس المنتج باستخدام فول الصويا.

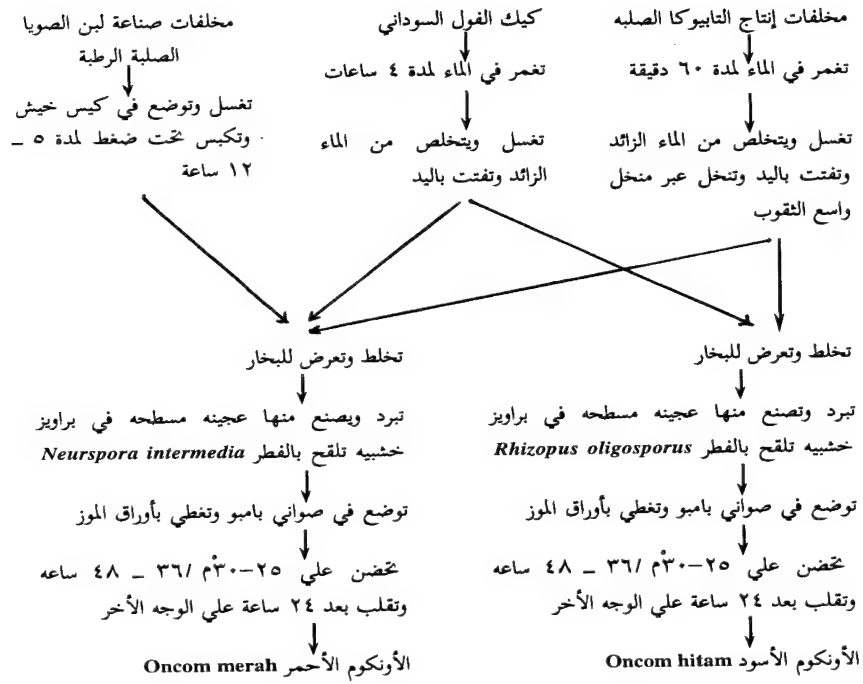
ب- الأونكوم (Oncom (ontjom):

يصنع الأونكوم من مخلفات عصر بذور الفول السوداني (كسب الفول السوداني) بعد عملية استخلاص الزيت، وأيضاً من مخلفات صناعة لبن الصويا، ومن مخلفات إنتاج التابوكا (نبات درنى نشوى).

ويستخدم فى إنضاج الأونكوم فطر *Rhizopus oligosporus*؛ الذى يستخدم أيضاً فى إنضاج التمبى، أو الفطر *Neurospora intermedia*؛ وبذلك يختلف نوع الأونكوم الناتج تبعاً لنوع الفطر المستخدم فى تجهيزه.

فعند استخدام الفطر *R. oligosporus* فى الإنضاج، ينمو ميسليومه على سطح الأونكوم، ثم يغطى سطحه بالأكياس الأسبورانجية السوداء التى تغطى السطح لوناً داكناً؛ لذا يطلق على المنتج اسم «الأونكوم الأسود *oncom hitam*»، بينما يؤدى نمو الفطر *N. intermedia* إلى تكوين الكونيديات ذات اللون المحمر؛ لذا يسمى المنتج «الأونكوم الأحمر *oncom merah*».

ويستخدم الأونكوم بديلاً للحم؛ مثله فى ذلك مثل التمبى. وعادةً ما يتم تقطيع الأونكوم إلى شرائح تطفى فى الزيت، أو قد يستخدم فى صناعة الشوربات. ويتميز الأونكوم بطعمه المشابه لطعم اللحم، وقوامه الطرى المقبول لدى جمهور المستهلكين. ويوضح شكل (٨٤) طريقة صناعة الأونكوم.



شكل (٨٤) : الطريقة التقليدية لصناعة الأونكوم منزلياً في أندونيسيا.

ج - صوص الصويا (الشويو) (Soy souce (shoyu):

صوص الصويا عبارة عن سائل بني اللون، له طعم اللحم المملح. ويتم تصنيع هذا الغذاء عن طريق تحليل بروتينات بذور فول الصويا في وجود دقيق القمح، وأحياناً بدونه. وتستخدم في هذا التحليل إنزيمات الفطر *Aspergillus oryzae* في بيئة تحتوى على ١٨٪ ملحاً.

ويستخدم صوص الصويا لتحسين طعم ونكهة المأكولات المختلفة، كما يستخدم كفاتح للشهية، بالإضافة إلى قدرته على تحسين الهضم بصفة عامة. وتختلف طرق إنتاج صوص الصويا من بلد إلى آخر؛ وبالتالي يختلف المنتج نفسه تبعاً للدولة المنتجة له، سواء أكانت اليابان، أم الصين، أم إندونيسيا، أم أى بلد آخر من منطقة جنوب شرق آسيا.

وفيما يلي خطوات إنتاج صوص الصويا بالطريقة اليابانية:

* تغسل بذور فول الصويا للتخلص من الشوائب العالقة بها، ثم تنقع في ماء فاتر - على درجة حرارة الغرفة - لمدة ١٠ ساعات - ١٢ ساعة. ويجب تغيير الماء كل فترة؛ حتى لا يؤدي نمو البكتيريا الملوثة إلى خفض رقم الحموضة؛ وفي هذه المرحلة يتضاعف وزن البذور نتيجة تشربها للماء.

* تصفى البذور التي سبق نقعها، ثم تطهى في وعاء تحت ضغط (أوتوكلاف) على ضغط واحد جوى لمدة ساعة، وبعد ذلك تبرد بسرعة.

* يتم تخميص حبوب القمح - أو دقيق القمح - على حرارة ١٧٠°م - ١٨٠°م لعدة دقائق، ثم تجرش الحبوب، وتترك لتبرد.

* يجهز اللقاح الأولي للفطر (البادىء)؛ الذى يطلق عليه اسم «كوجى Koji»؛ وهى تعنى الحبوب النامية عليها الفطر *mouldy grains*. ويسمى «الكوجى» تبعاً لنوع الحبوب المنمى عليها الفطر؛ فقد يكون «كوجى أرز rice koji»، أو «كوجى شعير barley koji»... وهكذا. وفي بعض الأحيان يسمى الكوجى تبعاً للون المنتج النهائي بعد نمو الفطر عليه، أو لنوعيته.

والكوجى عبارة عن أحد أنواع التخمرات الصلبة، التى تستخدم فيها الفطريات أو

غيرها من الأحياء الدقيقة الأخرى. وتُختار مثل هذه الأحياء الدقيقة بناءً على قدرتها على إفراز الإنزيمات المسؤولة عن تخمر المواد الغذائية بطريقة معينة؛ منتجةً في النهاية المنتج المرغوب.

ويعود الفضل إلى هذا الغذاء المتخمر (الكوجي) في عزل أول الإنزيمات التي استخدمت بعد ذلك تجارياً، وأطلق عليها - حينذاك - اسم «إنزيم تاكا ديستيز Ta-kadiastase»؛ نسبةً إلى العالم الياباني "Dr. Takamine"؛ الذي أنتج إنزيم الأميليز بتنمية الفطر *Aspergillus oryzae* على الأرز المطهى على البخار. ولقد قام هذا العالم - بعد ذلك - بتجفيف الإنزيم المنتج وحفظه في صورة مسحوق جاف.

ويعتبر «كوجي الأرز rice koji» من المواد الأساسية المستخدمة في صناعة نبيذ الأرز المعروف باسم «الساكي sake».

وعند تجهيز صوص الصويا، يتم إعداد اللقاح الأولي من الفطر (البادىء - الكوجي)؛ وذلك بتنمية الفطر على بيئة الأرز المسلوق. ويضاف هذا اللقاح إلى خليط بذور فول الصويا السابق طهيهِ، وتعقيمه مع حبوب القمح المحمصه والمطحونة بنسبة ١ : ١. ويستعمل لقاح فطرى بمعدل ١-٢٪.

ويتم تخضين المخلوط السابق على حرارة ٢٥ - ٣٥° لمدة ٤٥ ساعة. ويحتوى الكوجي الناتج على خليطٍ من فول الصويا وحبوب القمح والنموات الفطرية، بالإضافة إلى الإنزيمات المحللة، والتي تشمل الأميليز والسليوليز والبروتيز وغيرها.

* يتم خلط «الكوجي» بمحلولٍ ملحي تركيزه ٢٣٪ بنسبة ١ : ١,٥؛ وذلك لعمل الهريس mash؛ ثم يلقح هذا الهريس بمزرعةٍ نقيه من بكتيريا *Pediococcus soy-ae*، وتُحضن على درجة حرارة الغرفة لمدة شهر.

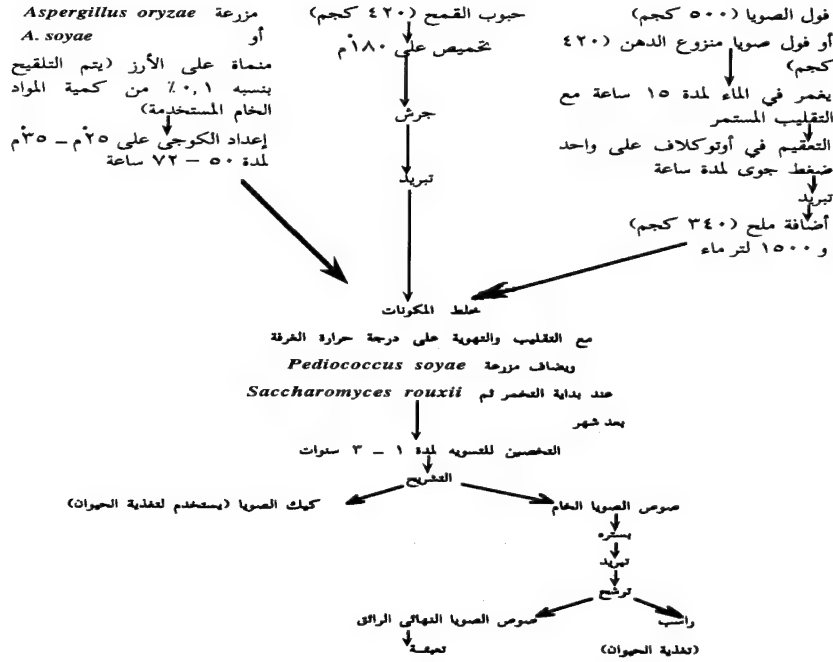
* بعد انتهاء فترة التحضين السابقة يضاف لقاح من فطر الخميرة *Saccharomyces rouxii*؛ وذلك بغرض التحكم في طبيعة ونواحي التخمير، وأيضاً لتحسين طعم ونكهة المنتج النهائي. ويتم التحضين لفترةٍ طويلةٍ عادةً، تتراوح بين سنةٍ واحدةٍ وثلاث سنواتٍ على درجة حرارة الغرفة.

* بعد تمام فترة التحضين، يتم الترشيع الغشائي تحت ضغط؛ للحصول على المنتج النهائي (صوص الصويا) في أسرع وقتٍ، دون فقدٍ لمركبات النكهة التي تكونت

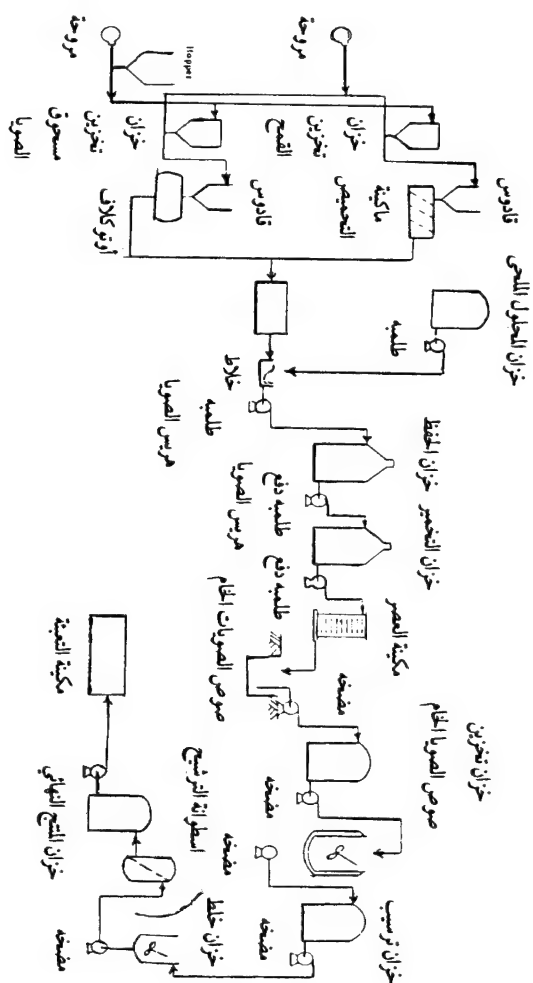
خلال فترة الإعداد الطويلة. وبعد ذلك تتم بسترة صوص الصويا الناتجة على حرارة 80°C - 90°C ، ثم ترشح مرة أخرى بعد التبريد؛ للتخلص من المواد العالقة، والتي قد تكون تكونت خلال المعاملة الحرارية السابقة. ثم يعاد المنتج النهائي في زجاجات سعة الواحدة لتر أو أقل. وقد تضاف - أحياناً - أحد أملاح البنزوات كمادة حافظة.

ويوضح شكل (٨٥) خطوات صناعة صوص الصويا على الطريقة اليابانية (الشويو

الياباني).



شكل (٨٥) : خطوات صناعة صوص الصويا على الطريقة اليابانية (الشويو الياباني).



شكل (٨٦) : خط إنتاج تجارى متكامل لمرص الصربا - نابوران.

ويمكن صناعة صوص الصويا بطريقة كيميائية؛ وذلك بعمل تحليلي حامضي مخلوط بذور فول الصويا وجيوب القمح باستخدام حمض هيدروكلوريك تركيزه ٢٠٪ على درجة حرارة الغليان لمدة ١٢ - ١٦ ساعة. وبعد أن يبرد المستحضر السابق يتم ترشيحه، ثم معادلة الحموضة بالصودا الكاوية، وضبطها عند رقم حموضه ٤,٥، يلي ذلك بسترة المنتج، وإضافة الملح ثم التعبئة.

ويختلف صوص الصويا المنتج بطريقة كيميائية عن ذلك المنتج بطريقة حيوية باستعمال الفطر *Aspergillus oryzae* في الطعم والنكهة تماماً، ولا يستخدم ذلك المنتج الكيميائي مطلقاً في دول جنوب شرق آسيا، ولكنه يستعمل في الدول الأوروبية.

وتعتبر الدول العربية مستهلكة لصوص الصويا بدرجة متوسطة؛ حيث تأتي في المرتبة الثالثة بعد جنوب شرق آسيا وأمريكا الشمالية، ويبلغ متوسط الاستهلاك السنوي لصوص الصويا في المنطقة العربية نحو ٦٥٠ طناً سنوياً.

د - عجائن الصويا المتخمرة Fermented soybean pasts:

تصنع من بذور فول الصويا عدة أنواع من العجائن المتخمرة؛ منها الميزو Miso، والتوكو Tauco الأندونيسي، والدونيانج Doenjang الكوري.

ويعتبر الميزو أكثر عجائن الصويا المتخمرة شهرةً، وهو عبارة عن عجينة لينية ذات طعم اللحم المملح. وتتميز هذه العجينة بارتفاع نسبة البروتين بها.

وتصنع عجينة الميزو من بذور فول الصويا، أو من مخلوط الصويا والأرز والشعير. ويستخدم في تسويتها الفطر *Aspergillus oryzae* أو *A. soya*، مع فطر الخميرة *Sac-charomyces rouxii*.

ويتراوح لون العجينة بين الأصفر الذهبي والبني، وتشبه في ملمسها الجبن القريش. ويستخدم الميزو في صناعة الشوربات بأنواعها المختلفة، وفي صناعة مكعبات الشورية

الجاهزة. كما يستعمل الميزو كمحلولٍ للتخليل، وأيضاً يضاف إلى الأسماك لتغطية الطعم السمكى (زفارة السمك).

وتتم صناعة الميزو تجارياً بنقع بذور فول الصويا في الماء على حرارة ٢٥°م لمدة ١٦-١٧ ساعة حتى تتشرب الماء، ثم يطهى على نصف ضغط جوى لمدة ساعة في الميزو ذى اللون الأصفر الذهبى، أو على ضغط جوى واحد لمدة ساعتين في الميزو ذى اللون البنى الداكن.

ويجهز اللقاح الأولى (البادىء) للفطر المستخدم فى إنضاج الميزو (والذى يطلق عليه كوجى Koji) باستخدام حبوب الأرز أو الشعير بعد نقعها فى الماء لمدة ١٧ ساعة على حرارة ٢٥°م، ثم تطهى على البخار لمدة ٧٠ دقيقة، ثم تترك لتبرد.

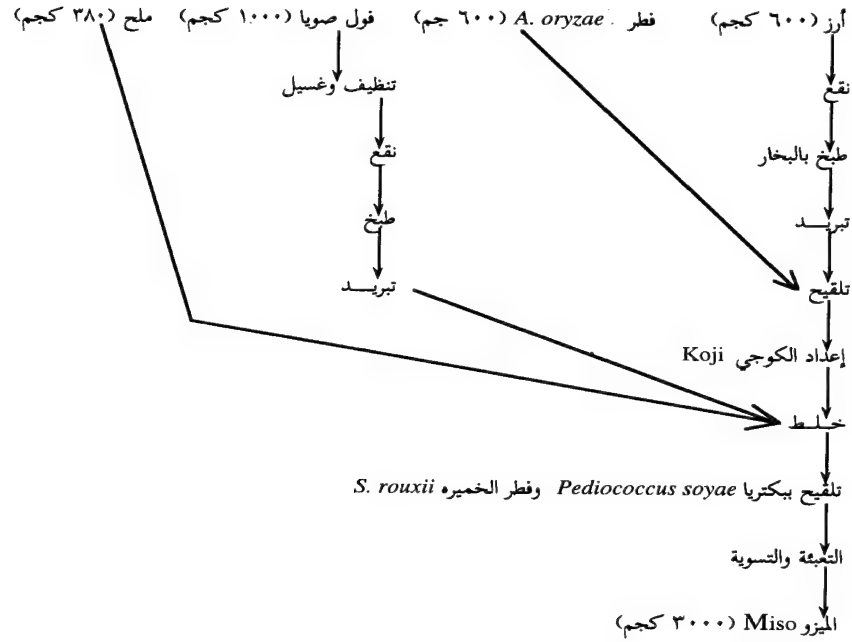
ويتم تلقيح الحبوب المطهية بالفطر *A. oryzae*، ثم تفرد الحبوب الملقحة فى صوانٍ من الخشب أو الصلب غير القابل للصدأ، وتوضع هذه الصوانى فى حجرة تخضين درجة حرارتها نحو ٢٨°م لمدة ٤٨ - ٥٠ ساعة، أو حتى يظهر النمو الميسليومى ويغطى الحبوب، ولكن يجب أن يتم ذلك قبل تكوين الجراثيم؛ حتى لا يفسد طعم المنتج النهائى.

وبعد تمام نمو الفطر وتجهيز مادة اللقاح (البادىء - الكوجى)، يتم خلطه بالملح وبذور فول الصويا السابق طهيها، ثم يفرم المخلوط، ويعبأ فى أوعية زجاجية (برطمانات). وتخضن هذه الأوعية على حرارة ٢٨°م لمدة أسبوع، ثم على حرارة ٣٥°م لمدة شهرين؛ وذلك لاستكمال تخمر بذور فول الصويا وإتمام التسوية. وقد تستكمل التسوية على درجة حرارة الغرفة لمدة أسبوعين.

وفى بعض الأحيان تتم بسترة المنتج النهائى بعد تمام التسوية؛ وذلك لوقف نشاط الإنزيمات الفطرية المحللة؛ مما يمنع زيادة التسوية وتكوين منتج نهائى فائق النضج، قليل القيمة الاقتصادية.

ويحتوى المنتج النهائى (الميزو) على حوالى ١٠٪ - ١٢٪ ملحا ، و ١٣٪ - ٢٠٪ بروتينا، و ١٢٪ - ٣٠٪ كربوهيدرات. وهو من المنتجات الغذائية التى تجد قبولا لدى المستهلك العربى؛ نظراً لحرافته العالية.

ويوضح شكل (٨٧) : خطوات صناعة أحد أنواع الميزو اليابانى:



شكل (٨٧) : خطوات صناعة الميزو شنشو اليابانى (Japanese shinshu miso).

وأثناء تجهيز اللقاح الأولى للفطر (الكوجي) المستعمل في عملية التسوية يفرز الفطر إنزيمات الأميليز؛ التي تعمل على تحليل النشا إلى دكسترين ومالتوز وجلوكوز، كما يفرز الفطر إنزيمات تحليل البروتين وتحليل الدهون؛ ولذا فإن إضافة الكوجي إلى حبوب فول الصويا السابق تجهيزها هي بداية لعمليات التخمر والتسوية بالإنزيمات.

وفي مرحلة تالية للتخمر الفطري، تضاف بكتيريا حمض اللاكتيك *Pediococcus soyae* التي تستفيد من نواتج التحلل الإنزيمي الفطري، بينما تنتج هي حمض اللاكتيك؛ بالإضافة إلى مركبات نكهة (منكهات)، وفي الوقت نفسه يتحلل كل من سكر الرافينوز والستاكيوز المسؤولين عن حدوث الانتفاخات المعوية.

ويمكن صناعة بعض الأغذية المخمرة من الأسماك؛ حيث نالت اهتمام الباحثين في مجال علوم الأحياء الدقيقة (الميكروبيولوجي) في دول غرب أوروبا، وخاصة في السنوات الأخيرة من هذا القرن؛ نظراً للقيمة الغذائية العالية لهذه الأغذية المخمرة.

ولقد نظمت عديد من المراكز البحثية والعلمية في هذه الدول دورات تدريبية وورش عمل للعاملين بالصناعات الغذائية؛ للتعرف على التقنيات الحديثة في التصنيع، ودراسة العوامل المؤثرة في العمليات الإنتاجية، وتطوير الكائنات الحية الدقيقة المستخدمة في إنتاج هذه الأغذية؛ باتباع تقنية الهندسة الوراثية.

كما اهتمت هذه المراكز العلمية باستخدام سلالات نقية من الكائنات الدقيقة المعدلة وراثياً. ولقد واكب ذلك تطوير طرق التصنيع نفسها، واستخدام مواد خام غير تقليدية. وأيضاً كان للإعلام دور واضح في إبراز نتائج هذا التطور الكبير في إنتاج الأغذية المخمرة؛ وذلك من ناحية قيمتها الغذائية والصحية لدى جمهور المستهلكين.

ثالثاً : تصنيع الجبن :

بدأ الإنسان فى صناعة الجبن عندما عرف الزراعة واستأنس بعض الحيوانات التى استخدمها فى حمل الأشياء الثقيلة أو جر المحراث .. وفى ذلك الوقت عرف ذلك الإنسان البدائى اللبن المتجبن المأخوذ من مَعَدَات العجول الصغيرة .
ولقد نشأت صناعة الجبن فى الشرق الأوسط - مهد الحضارات القديمة - وانتقلت بعد ذلك إلى دول حوض البحر المتوسط، ثم انتشرت فى باقى أنحاء العالم عبر العصور المختلفة .

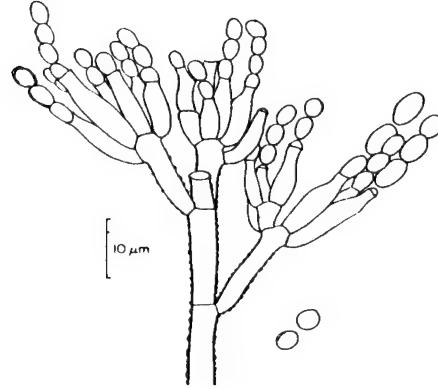
وتستخدم بعض الفطريات فى تسوية أنواع مختلفة من الجبن، سواء أكانت مسواة تسوية داخلية؛ كما هى الحال فى تسوية الجبن الروكفور، أم مسواة تسوية سطحية؛ كما هى الحال فى تسوية الجبن الكمبرت .

١- الجبن المسوى داخلياً :

لم يعرف الإنسان الجبن المسوى بالفطريات إلا فى بداية القرن العاشر الميلادى؛ ففى منطقة Aveyron بفرنسا أنتج نوع من الجبن كان يُحَضَّن فى بعض المغارات ؛ ليكتسب طعماً مميزاً ؛ وذلك نتيجة نمو أحد الفطريات الخضراء اللون عليها بطريقة طبيعية، وكان يطلق عليها اسم «الجبن الروكفور Roquefort cheese» .. ولم يعرف هذا النوع من الجبن - حينذاك - إلا فى تلك المنطقة .

وبعد ذلك بسنوات طويلة انتقلت صناعة هذا الجبن إلى المناطق المجاورة فى فرنسا، وإلى الدول الأخرى، وساعد على ذلك التعرف على نوع الفطر المسمول عن تسوية هذا النوع من الجبن؛ وهو الفطر *Penicillium roquefortii*، والفطر *P. expansum* .

ولقد عُرف هذا النوع من الجبن المنتج في فرنسا باسم «الجبن الروكفور»، بينما عُرف في الدول الأخرى المنتجة له بعدة أسماء مختلفة؛ مثل: «الجبن الأزرق Blue cheese»، أو «الجبن الأخضر Green cheese»، أو «Danablu»، أو «Niva»، أو «Persille»، أو «Márvány sajt».

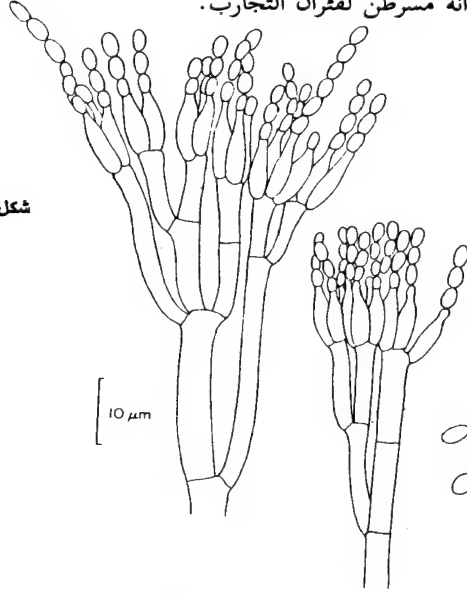


شكل (٨٨) : الفطر *Penicillium roquefortii*. حامل كونيدي متفرع إلى فروع متباعدة، بينما الحامل الكونيدي الرئيسي ذو جدار خشن.

ولقد وجد الباحث Boysen وزملاؤه (١٩٩٦) أن الفطر المناسب لتسوية ذلك النوع من الجبن هو الفطر *Penicillium roquefortii var. roquefortii*، في حين أن السلالات الأخرى القريبة من هذا الفطر هي سلالات غير مناسبة، وينصح بعدم استخدامها؛ نظراً لإنتاجها بعض السموم الفطرية.

فعلى سبيل المثال، أوضحت دراسات أخرى أن الفطر *P. expansum* الذي كان يستخدم في بعض الدول لتسوية الجبن الأزرق يقوم بإنتاج المضاد الحيوى باتيولين

patulin - والذي يعرف باسم **expansin**، أو **penicidin** - وهو مثبط لنشاط البكتيريا والفطريات، ولكنه سام للنبات والحيوانات وأيضاً للإنسان. كما دلت الأبحاث على أنه مسرطن لفقران التجارب.



شكل (٨٩) : الفطر *Penicillium ex-*

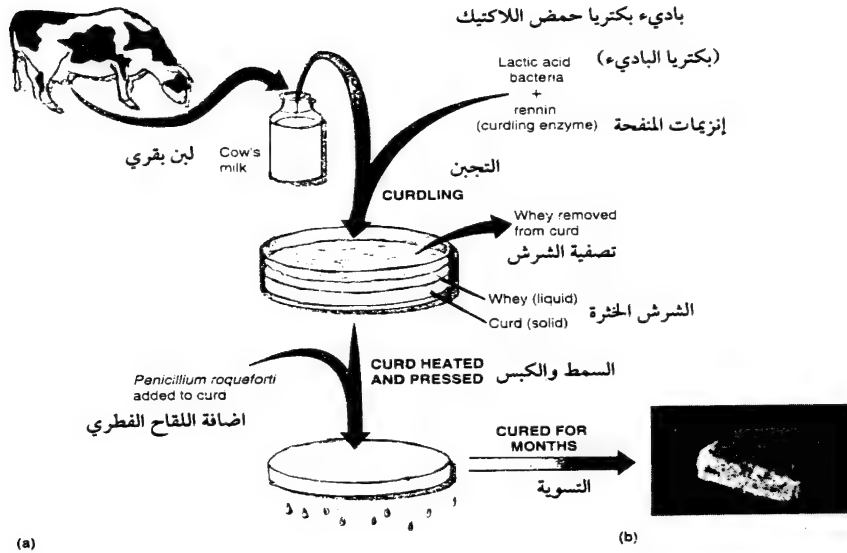
pansum الذى يتميز بالحوامل

الطويلة ذات التفرعات المتقاربة.

ويصنع هذا الجبن من لبن الأغنام الذى يحتوى على حوالى ٦,٥ ٪ دهناً، وقد يصنع من اللبن البقرى فى بعض الحالات. وتبدأ مراحل الصناعة ببسترة اللبن وتجنيسه، ثم يبرد إلى حوالى ٣٠°.

ويضاف لقاح من بكتيريا حمض اللاكتيك (بادىء)، غالباً ما يكون للبكتيريا *Streptococcus thermophilus* بنسبة ٠,٥ ٪، ويحضن لمدة ساعة على حرارة ٣٠°، ثم يضاف مستخلص المنفحة، ويخلط هذا كله، ثم يستمر التحضين حتى يتجبن اللبن خلال نصف ساعة تقريباً.

وبعد تمام تجبن اللبن ، تقطع الخثرة المتكونة إلى مكعبات ، ويستمر التحضين حتى تصل الحموضة في الشرش إلى ٠,١١ ٪ - ٠,١٤ ٪ مقدرة كحمض لكتيك ؛ وذلك خلال ساعة من تجبن اللبن. وبعد ذلك يتم التخلص من الشرش الزائد، ورفع درجة الحرارة إلى ٣٣,٥ لمدة دقيقتين.



شكل (٩٠): مراحل تصنيع الجبن الأزرق blue cheese المسوى بواسطة الفطر - *Penicillium roqueforti*.

وتعباً الخثرة - بعد ذلك - فى القوالب الخاصة بها مع خلطها بالملح الجاف ومسحوق فطر *P. roquefortii* بنسبة كيلو ملح واحد و ٣٠ جرام فطر لكل نصف طن خثرة. ويجب أن يكون ارتفاع الخثرة - بعد التعبئة مباشرة - قدر ارتفاعها مرة ونصف بعد التخلص من الشرش؛ حيث يستغرق ذلك نحو أربعة أيام. ويراعى تقليب الخثرة أثناء الكبس ثلاث مرات يومياً.

وبعد تمام انفصال الشرش، تنزع أقراص الجبن من القوالب، وتوضع على أرفف خشبية، وتحضن على درجة حرارة ١٥°م لمدة أربعة أيام، تحت ظروف رطوبة نسبية حوالى ٨٥٪، مع تغطية سطح أقراص الجبن بالملح.

وعندما تنتهى فترة التحضين، تنظف أسطح أقراص الجبن، وتثقب بمثقاب خاص؛ بحيث يكون عدد ثقب كل قرص حوالى ٥٠ ثقباً. وتنقل هذه الأقراص بعد ذلك إلى حجرة التسوية؛ حيث يتم تحضينها على حرارة ١٠°م - ١٢°م تحت ظروف رطوبة نسبية حوالى ٩٥٪.

ويتم تقليب وتنظيف أقراص الجبن كل أربعة أيام؛ وذلك لمدة عشرين يوماً. وفى هذه الأثناء تظهر النموات الفطرية للفطر *P. roquefortii*؛ حيث تعتبر هذه المرحلة أولى مراحل التسوية.

وعندما يستكمل الفطر لنموه، تنظف أقراص الجبن، وتغلف برقائى الألومنيوم، ثم تنقل إلى حجرات التسوية - المرحلة الثانية - حيث تحضن على حرارة ١٦°م - ١٨°م. وفى هذه المرحلة تتم تسوية الجبن بصورة نهائية، ويستغرق ذلك حوالى ثلاثة شهور.

وفى مرحلة التسوية النهائية، يستكمل الفطر تحليله للبروتين والدهون والكربوهيدرات الموجودة فى الجبن، منتجاً مركبات النكهة المميزة لهذا الصنف من الجبن. وتنقل أقراص الجبن الناضجة بعد ذلك، وتخزن فى الثلاجات على درجة واحدة مئوية لحين توزيعها، وقد يعاد تغليف قطع الجبن بعد نضجه برقائى الألومنيوم أو بالبلاستيك.

ويعتبر هذا النوع من الجبن من الأنواع نصف الجافة التي يتم تسويتها داخلياً باستعمال الفطريات. ومن الأنواع الأخرى التي تتم تسويتها داخلياً باستعمال أنواع مختلفة من الفطريات جبن الجورجونزولا *Gorgonzola*، والستلتون *Stilton*.

٢- الجبن المسوى سطحياً:

هناك طريقة أخرى لتسوية بعض أنواع الجبن وذلك بطريقة سطحية؛ حيث ينمو الفطر المستخدم في الإنضاج خارجياً على سطح أقراص الجبن؛ مثال ذلك الجبن الكممبرت *Camembert cheese*؛ وهو أحد أنواع الأجبان الطرية.

ومن أنواع الجبن الأخرى المسوى سطحياً: النيوشاتل *Newchâtel*، والبراى *Brie*، والأوليفية أوفوان *Olivet aufoin*، وسان مارسيلان *Saint Marcellin*، والكولومبيير *Coulommier*، وغير ذلك من أنواع لا حصر لها.

ويرجع تصنيع هذا النوع من الجبن إلى منطقة كامبرت التي تقع على بعد ٥٥ كيلو متراً جنوب شرق مدينة كان *Caen* بمقاطعة نورماندى *Normandie* بفرنسا. ويستعمل في صناعة هذا الجبن لبن بقرى مبستر (٢٢٠ / ١٦ ثانياً)، ثم يبرد بعد ذلك إلى درجة حرارة ٣٢°م.

ويضاف لقاح (بady) نشط من بكتيريا حمض اللاكتيك إلى اللبن الذي سبقت بسترته؛ وذلك لزيادة حموضته إلى ٠,٢٢٪ مقدرة كحمض لاكتيك؛ وذلك في حدود ١٥ - ٣٠ دقيقة. وبعد ذلك يضاف مستخلص المنفحة بنسبة ١٠٠ مليلتر منفحة عيارية لكل ٥٠٠ لتر لبن. وقد يضاف مع المنفحة لقاح من الفطر *Penicilli-um candidum* أو الفطر *P.camemberti*، إلا أن الفطر الأول أكثر استخداماً.

وفي حالات أخرى، لا تتم إضافة اللقاح الفطري مع المنفحة، ولكن يتم ذلك بعد

خروج أقراص الجبن من القوالب عند تمام تجبنها؛ حيث يرش اللقاح الفطري على سطح قوالب الجبن.

ويتم التجبن - بصفة عامة - في حدود ٤٥ دقيقة، ثم تقطع الخثرة إلى مكعبات، وتترك لمدة ١٥ دقيقة للتخلص من الشرش. وتعباً الخثرة بعد ذلك في قوالب خاصة، وتخضع على ٢٢° لمدة ثلاث ساعات. وفي اليوم التالي يستمر التحضين تحت نفس الظروف السابقة، مع قلب الخثرة ٣-٤ مرات في ذلك اليوم.

وبعد انتهاء هذه المرحلة، تنزع الأقراص من القوالب، وتغمر في محلول ملحي مشبع (تركيزه ٢٦٪)، أو ترش بملح جاف، وتترك لمدة ١-١,٥ ساعة، ثم ترص أقراص الجبن بعد ذلك على أرفف داخل حجرات التسوية (الإنضاج)، وتترك لمدة ١٠-١٢ يوماً على حرارة ١٢°، ورطوبة نسبية ٩٥ - ٩٨٪.

ويبدأ ظهور النموات الفطرية للفطر *P. candidum* على سطح أقراص الجبن بعد حوالي خمسة أيام من إضافة اللقاح (البادىء)؛ حيث يراعى قلب أقراص الجبن أربع مرات خلال وجودها على الأرفف في حجرة التسوية.

وبعد استكمال تسوية أقراص الجبن، يتم تغليفها بورق بارافين، أو برقائق الألومنيوم المبطن من الداخل بورق مشمع. وتحفظ أقراص الجبن الكممبرت - بعد ذلك - في ثلاجات التخزين على حرارة ٤° لحين توزيعها أو استهلاكها.

وتحتوى هذه الأنواع من الجبن الطرى - المسوى سطحياً باستعمال الفطريات - على أكثر من ٤٠٪ دهناً؛ لذا يلعب تحليل الدهون والبروتينات دوراً هاماً في تحديد طعم الجبن. ويتم تحليل هذه المركبات بفعل إنزيمات الفطر المستخدم في الإنضاج، والتي تؤثر على مكونات الجبن بعد إنتهاء مرحلة التسوية.

فعلى سبيل المثال، أوضح الباحثان (Molimard & Spinnler 1996) أن الفطر *P. candidum* ينتج كميات كبيرة من إنزيم *lipase*، وهذه الكميات تؤثر بصورة

أساسية على الجليسيريدات التي تحتوي على أحماض دهنية قصيرة السلسلة؛ وهي التي تسهم بصفة رئيسية في إظهار طعم الجبن الكمميرت، وخاصة تلك الأحماض المحتوية على ٤-١٢ ذرة كربون.

وقد أظهرت الدراسة السابقة - أيضاً - أن مركبات ميثيل كيتون - التي تحتوي على ٣-١٥ ذرة كربون - هي من المكونات الأساسية لنكهة هذا النوع من الجبن؛ مثال ذلك heptan-2-one و nonan-2-one، و undecan-2-one، وغيرها؛ حيث تنتج هذه المركبات نتيجة أكسدة الأحماض الدهنية في الوضع «بيتا»، ثم نزع مجاميع الكربوكسيل. وقد يصاحب التحلل الإنزيمي الفطري إنتاج بعض الأسترات الأخرى واللاكتونات.

وبالإضافة إلى ما سبق، فإنه ينتج عن تحلل البروتينات - بفعل إنزيمات الفطر المستخدم في إنضاج جبن الكمميرت - أحماض أمينية، وأحماض كيتونية، وألدهيدات، وكحولات، علاوة على بعض المركبات الكبريتية مثل dimethyl disulphide.

وعلى أية حال، فإن نواتج تحليل مكونات الجبن بفعل الإنزيمات الفطرية يتوقف على ظروف الإنتاج والتسوية؛ بحيث أن اختلاف هذه الظروف وعدم المتابعة الجيدة قد يؤديان إلى إنتاج منتج منخفض الجودة وغير مأمون على صحة المستهلكين.

ولقد اهتم بعض الباحثين في مصر (فكري ١٩٨٧) بمحاولة إنتاج الجبن الكمميرت من اللبن الجاموس، ولقد تم ذلك بنجاح، إلا أن المستهلك المصري لم يُقبل على استهلاك الجبن التام النضج، وفضل عليه الجبن نصف الناضج. أما الجبن الأزرق (الروكفور)، فلقد اهتم عدد من الباحثين في مصر بإنتاجه محلياً، ونجحوا في ذلك إلى حد بعيد؛ حيث لاقى المنتج المحلي قبولاً لدى جمهور المستهلكين.

رابعاً : إنتاج الخمائر ومشتقاتها :

يعتبر استخدام الخمائر فى صناعة الخبز والمشروبات الكحولية وفى إنتاج بعض الأغذية المتخمرة من الاستخدامات التقليدية التى انتشرت فى كثير من الحضارات الإنسانية القديمة، ومازالت تستخدم حتى الآن فى شتى أنحاء العالم.

ولقد تنوع استخدام فطريات الخميرة فى صناعة الأغذية تنوعاً كبيراً؛ حيث تستخدم حالياً فى تحسين طعم ونكهة عديد من الأطعمة، وأيضاً فى رفع قيمتها الغذائية. ومع بداية سيتنيات هذا القرن، اتجه العالم إلى إنتاج البروتينات من الكائنات الحية الدقيقة مثل الخمائر، فيما عرف باسم «البروتين الميكروبى single cell pro-tein (SCP)».

وعند مقارنة هذا البروتين الميكروبى بما يمكن إنتاجه من بروتينات نباتية أو حيوانية تقليدية، فإننا نجد أن الإنتاج الميكروبى أكثر وفرة، سواء بالنسبة إلى وحدة المساحة المستخدمة فى الإنتاج، أم بالنسبة إلى المواد المغذية، أم الوقت اللازم لتضاعف الكتلة الحيوية.

فعلى سبيل المثال، عند استخدام مساحة هكتار لرعى الأبقار، فإن كمية البروتين الجاف الناتج سنوياً تقدر بحوالى ١٨ كيلو جرام، ويرتفع هذا الرقم إلى ٦٧٥ كيلو جرام إذا كانت هذه المساحة مزرعة سمكية، بينما يقفز هذا الرقم إلى ٦٥ طناً من البروتين الجاف إذا استغلت هذه المساحة فى زراعة عيش الغراب؛ كأحد أنواع البروتين الميكروبى.

ويختلف معدل إنتاج البروتين الميكروبي عن معدل إنتاج البروتين الحيواني التقليدي؛ ففي الوقت الذي تحتاج فيه العجول الصغيرة إلى وقت يتراوح بين شهرين وأربعة شهور لكي تتضاعف كتلتها الحيوية، تحتاج نباتات فول الصويا إلى ١٠-١٢ أسبوعاً، ولا تحتاج خلايا الخميرة إلا لعدة ساعات (٢-٤ ساعات)، لكي تتضاعف كتلتها الحيوية.

وعلاوة على ما سبق، فإن المواد التي تستخدم لإنماء الخميرة أو لزراعة عيش الغراب هي مواد يمكن اعتبارها متخلفاتٍ عن العمليات الزراعية أو مراحل التصنيع الغذائي؛ أي إنها مواد غير مكلفة. وبالمقارنة، نجد أن إنتاج البروتين الميكروبي لا يحتاج إلى أعلافٍ ولا أسمدةٍ ولا أرضٍ خصبة، ولا تكاليف إضافية... إنه هبة من الله - سبحانه وتعالى - وعلينا نحن حسن استغلالها.

ولقد تنبه الألمان إلى أهمية البروتين الميكروبي خلال الحربين العالمية الأولى والعالمية الثانية، وذلك عندما واجهوا نقصاً في الغذاء؛ حيث عملوا على زراعة خميرة الخباز *Saccharomyces cerevisiae* وخميرة التوريولا *Torulopsis torula yeast* (utilis) وذلك على نطاقٍ واسعٍ للاستعمال المباشر كغذاء؛ كما استخدم ذلك البروتين لحل مشكلة الجوع ونقص البروتين في كثيرٍ من دول العالم الثالث، سواء كغذاءٍ آدميٍّ بطريقةٍ مباشرة، أم كعلفٍ للحيوانات والطيور والأسمك لإنتاج لحمٍ تقليديٍّ بتكاليفٍ محدودة.

ثم اتجه العالم حالياً إلى استخدام الفطريات في حل مشاكل البيئة، وإعادة تدوير المخلفات العضوية والاستفادة منها في إنتاج غذاءٍ غير تقليديٍّ؛ مثل إنتاج فطريات عيش الغراب التي تتميز بسرعة نموها واحتوائها على نسبةٍ عاليةٍ من البروتين، يمكن الاعتماد عليه في التغذية كبديلٍ للحوم، وخاصة إذا عزّ وجودها.

وكذلك الحال في فطريات الخمائر، التي اتجه العالم إلى الاستفادة منها كإضافاتٍ غذائيةٍ لعددٍ من المنتجات منذ سنواتٍ طويلةٍ مضت، وخاصةً أنها غنية في

بعض الأحماض الأمينية الأساسية مثل الليسين، وأيضاً في محتواها من الفيتامينات (خاصة مجموعة فيتامينات B).

ولكن يعيب الخميرة محتواها العالي من الأحماض النووية *nucleic acids*، وخاصة الحمض النووي الريبوزي RNA؛ نظراً لارتفاع معدل انقسامها. وتصل نسبة الأحماض النووية في الخمائر إلى نحو ٦-١٥٪، بينما لا تزيد في اللحوم الحمراء على ٢٪. وخلال التمثيل الغذائي لهذه الأحماض النووية في جسم الإنسان، تتحول قواعد البيورين إلى حمض يوريك *uric acid*، يقوم الجسم بالتخلص منه خلال البول.

وعندما يتغذى الإنسان على كميات كبيرة من الخميرة ذات المحتوى العالي من الأحماض النووية الريبوزية، فإن الجسم لا يستطيع التخلص من تلك الكميات الهائلة من حمض اليوريك الناتجة عن التمثيل الغذائي؛ وذلك يؤدي إلى ترسيب أملاح هذا الحمض في المفاصل؛ مسبباً نوعاً من الالتهاب؛ يعرف باسم «مرض النقرس *gout*».

ليس هذا فقط، بل إن أملاح اليورات التي تتكون بكثرة في هذه الحالة تتبلور في البول؛ مكونة حصوات صغيرة تتكون في حوض الكلى، ثم تتحرك مع حركة البول إلى الحالب؛ مسببةً آلاماً مبرحة، وقد تتجمع في المثانة، ويستمر تبلورها حتى تتكون حصوات كبيرة الحجم لدرجة يصعب تصديقها.

ويعتبر المستوى المأمون من كمية الأحماض النووية التي يحصل عليها الإنسان في غذائه نحو جرامين يومياً؛ وهو معدل منخفض إذا اعتمد الإنسان على الخميرة كمصدر للبروتين؛ وذلك لأنه سوف يصل إلى هذا المعدل عندما يحصل على سدس احتياجاته الضرورية من البروتين.

وعلى أية حال، فإن الله - سبحانه وتعالى - قد وهب الإنسان إنزيماً محللاً لحمض اليوريك؛ وهو إنزيم *uricase*؛ والذي يعمل على أكسدة هذا الحمض، ويحوّله إلى مركب الأنتوين *allantoin* الذي يتخلص منه الجسم بسهولة.

لذا يجب مراعاة معاملة خلايا الخميرة المستخدمة في تجهيز الأغذية، أو كإضافات لعلف الحيوانات؛ وذلك لخفض نسبة الأحماض النووية بها. ومن هذه المعاملات ما يسمى بالصدمة الحرارية *heat shock*، والتي يمكن من خلالها خفض نسبة تلك الأحماض النووية من ٧-٩٪ إلى ١-٢٪، وبالتالي تقل خطورتها على صحة الإنسان أو الحيوان.

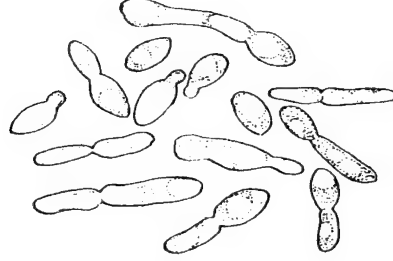
وهناك عديد من أنواع الخمائر التي استعملت في تغذية الإنسان؛ مثل *Candida utilis*، و *Kluyveromyces marxianus*، و *Saccharomyce cerevisiae* بالإضافة إلى كثير من أنواع الخميرة التابعة للأجناس: *Torulopsis*، و *Candida*، و *Kloe-ker*، و *Hansenula*، و *Pichia*، و *Trichosporon*.

وفي بعض الأحيان يمكن استخدام مزارع مختلطة من عديد من الفطريات، وخاصة عند استخدام مخلفات سيليلوزية أو لجنوسيليلوزية. وفي مثل هذه الحالات، يمكن تنمية أحد الفطريات المحللة لمثل هذه المخلفات؛ مثل: الفطر *Phanaerochaeta chrysosporium* - وهو أحد الفطريات التابعة لفطريات عيش الغراب - مع أحد أنواع الخمائر.

وفي المثال السابق، يقوم الفطر *P. chrysosporium* بتحليل المخلفات السيليلوزية واللجنوسيليلوزية إلى مواد سكرية بسيطة، تنمو عليها الخميرة مكونة كتلة حيوية *bio-mass* من خلاياها المتبرعمة، ومنتجة بعض نواتج التمثيل الغذائي الأولى والثانوى، والتي يمكن الاستفادة منها.

ولقد اهتمت كثير من الدراسات بإنماء الفطريات على مثل هذه المخلفات الصعبة التحلل، وإنتاج بروتين أمكن استخدامه كعلف للحيوان؛ مثال ذلك نوى البلح (النواوى - ١٩٩٣). وفي بحث آخر (Sukan & Yasin, 1986) أمكن تنمية الفطر *Trichoderma viride* والفطر *Geotrichum candidum* على قشور البرتقال؛ حيث احتوى المنتج النهائى على نحو ٢٠٪ بروتينا خاما.

أما بالنسبة إلى إنتاج فطريات الخمائر ومشتقاتها واستخدامها في التصنيع الغذائي، فإنه يستخدم - عادةً - فطر الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*. وتتم تنمية هذه الخميرة على بعض مخلفات التصنيع الغذائي؛ مثل المولاس، والشرش، وراشح اللبن، أو على بعض الكحوليات؛ مثل : الميثانول، والإيثانول، أو على اللاكتات أو أية مركبات سكرية يمكن أن ينمو الفطر عليها.



شكل (٩١) : فطر الخميرة *Kloekera apiculata* بعد ثلاثة أيام من نموها في بيئة مستخلص المولت السائلة.

وتنتج الخميرة في صورة نشطة *active yeast*، أو في صورة غير نشطة *inactive yeast*. وتستخدم الخميرة النشطة في عمليات التخمير، أو كمصدر لمركبات الطعم والنكهة، أو في النواحي التغذوية. أما الخميرة غير النشطة، فتستخدم فقط في النواحي التغذوية، وكمواد مالئة، أو كمركبات نكهة (منكهات).

١ - الخمائر النشطة *active yeasts* :

١- خميرة الخباز *Baker's yeast* :

يصل الإنتاج العالمي من خميرة الخباز إلى ما يزيد على مليوني طن سنوياً، وهي

موجودة فى عدة صور؛ منها المضغوطة **compressed yeast**، والجافة النشطة **active dry yeast**، والجافة اللحظية **instant active dry yeast**. وتختلف هذه الصور بعضها عن بعضى فى درجة النشاط، ومدى الثبات.

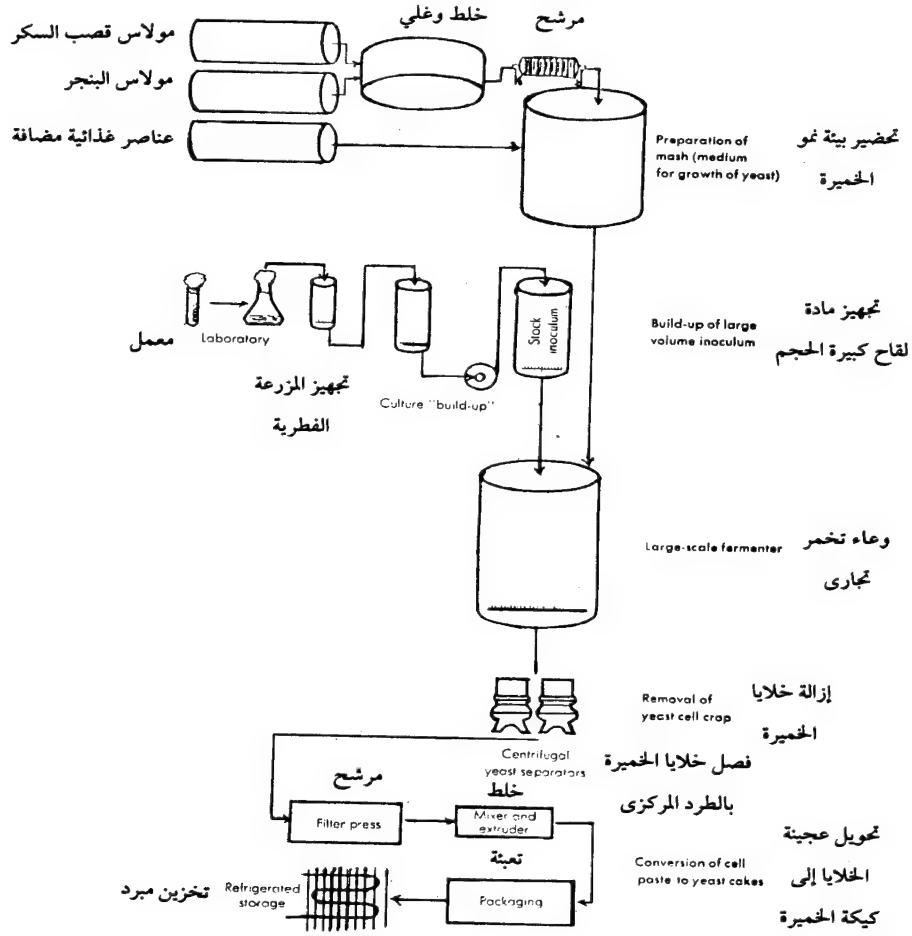
ويتم إنتاج خميرة الخباز بتلقيح السلالة النقية المنتجة فى دوارق تحتوى على البيئة المناسبة، والتي تتكون - غالباً - من خليط من مولاس القصب والبنجر كمصدر للكربون، بالإضافة إلى مصدر نيتروجيني، ومعادن، وفيتامينات، وغير ذلك من عوامل النمو الأخرى.

وتحضر دوارق النمو على حرارة ٣٠° لمدة ٢٤ ساعة، ثم ينقل محتوى الدوارق السابقة إلى دوارق أخرى أكبر حجماً، ثم إلى وعاء تخمر سعة ١٠ لترات، وبعد ذلك إلى وعاء تخمر أكبر ... وهكذا، حتى نصل إلى وعاء التخمر التجارى الذى تصل سعته إلى ١٠٠ ألف لتر - ٢٠٠ ألف لتر، تحت درجة الحرارة السابقة ذاتها.

ويراعى خلال تنمية الخميرة تحت الظروف السابقة ضبط رقم حموضة التنمية، والتهوية. ويفضل اتباع طريقة التنمية على دفعات متزايدة، أو التنمية المستمرة عند إنتاج خميرة الخباز تجارياً.

وتستغرق عملية الإنتاج نحو ١٠-٢٠ ساعة حتى الوصول إلى تركيز ٣,٥-٥% خلايا جافة. ويجب التحكم فى تركيز مصدر الكربون فى حدود ٠,٠١%؛ وذلك لتجنب حدوث تخمر كحولي، والذي يطلق عليه «تأثير كرابترى **Crabtree effect**».

كما يجب التحكم فى عملية التنفس الهوائى للخميرة النامية فى بيئة الإنتاج؛ حيث إن أفضل معدل نمو خلوي يكون عند زيادة معدل نمو المواد الصلبة الخلوية بنسبة ٢٥% فى الساعة. وتؤدي زيادة هذه النسبة إلى خفض إنتاج الكتلة الحيوية **bio-mass** للخميرة.



شكل (٩٢) : مراحل الإنتاج التجارى لخميرة الخباز.

وعندما يصل تركيز خلايا الخميرة في بيئة النمو إلى ٣,٥-٥٪ مادة جافة، يتم تركيز الخلايا بالطرد المركزي، ثم تغسل للتخلص من آثار بيئة النمو، وللتأكد من خلوها من مصدر الكربون المستخدم؛ حيث يطلق على هذا الناتج اسم «قشدة الخميرة yeast cream». وتحتوي قشدة الخميرة على نحو ١٨٪ مادة صلبة؛ حيث يتم تبريدها إلى ٢-٤°م، ثم ترشح تحت تفريغ، وبعد ذلك تحفظ على صفرم لحين استكمال تصنيعها.

ويمكن تصنيع قشدة الخميرة السابق تجهيزها إلى أي من المنتجات التالية:

* الخميرة المضغوطة compressed yeast:

يتم تصنيع الخميرة المضغوطة عن طريق خلط قشدة الخميرة بمادة مستحلبة أو أكثر. ويتم بثق extruded المخلوط، وتقطيعه إلى قوالب بأحجام مختلفة، أو تفتت في صورة مكعبات صغيرة (١ × ٥-١٠ ملم)، ثم تعبأ في عبوات سعة العبوة ١-٢٥ كيلو جرام.

ومن أهم عيوب الخميرة المضغوطة أنها سريعة الفساد؛ حيث لا تتجاوز فترة تخزينها على حرارة ٢-٧°م حوالي ٤-٥ أسابيع، بينما إذا تركت على درجة حرارة الغرفة فإنها تفقد نشاطها خلال ساعات قليلة.

وعلى الرغم من ذلك، فإن الخميرة المضغوطة من أكثر صور الخميرة المستعملة في الصناعة، ويرجع ذلك إلى سهولة استخدامها، ولكن يجب مراعاة استهلاكها بسرعة في وقت لا يتجاوز نصف الساعة بعد خروجها من ثلاجة التخزين.

* الخميرة الجافة النشطة active dry yeast:

تخلط قشدة الخميرة مع إحدى مواد الاستحلاب المناسبة، ومعظمها من الأسترات ومضادات الأكسدة، ثم يتم تجفيف المخلوط على حرارة ٢٥-٤٥°م لمدة ٦ ساعات في مجفف سيور مستمر continuous belt dryer.

ويتميز المنتج النهائي من الخميرة الجافة النشطة بلونه الذهبي، ومحتواه القليل من الرطوبة (٧,٥ - ٨,٣٪)، وثباته على درجة حرارة الغرفة لمدة حوالى ثلاثة شهور في وجود تهوية كافية. وفي بعض الأحيان يتم حفظ هذه الخميرة في جو نيتروجيني أو تحت تفريغ؛ حيث تزداد فترة الحفظ إلى حوالى عام. ويمكن تعبئة هذا المنتج في أكياس من رقائق الألومنيوم أو عبوات زجاجية أو معدنية.

وعند استخدام ذلك النوع من الخميرة، يجب استرجاعه في ماء دافئ (٤٣°م) لمدة ٥-١٠ دقائق.

* الخميرة الجافة النشطة لحظياً instant active dry yeast:

يتم إعداد هذا النوع من الخميرة باستعمال سلالات من خمائر تتحمل الجفاف؛ حيث يتم تصنيعها بنفس طريقة تصنيع الخميرة الجافة النشطة، مع اختلاف وحيد في طريقة التجفيف.

ويستعمل لتجفيف هذا النوع من الخميرة مجفف الطبقة الهائمة fluid bed dryer. وفي هذه الطريقة يتم دفع هواء ساخن درجة حرارته ٦٥°م - ٨٠°م فوق طبقة قشدة الخميرة المراد تجفيفها. ونظراً لارتفاع رطوبة قشدة الخميرة، فإن درجة حرارتها لا ترتفع عن ٣٨°م. ويستمر دفع الهواء الساخن حتى يتبخّر معظم الماء في قشدة الخميرة، وتصل نسبة الرطوبة بها في النهاية إلى حوالى ٥٪.

وعندما تجف خلايا الخميرة، فإنها تتجمع في حبيبات صغيرة الحجم، تكون منخفضة الكثافة وذات مسطح كبير. وعلى ذلك، فإنه يسهل استرجاعها، ولا تحتاج إلى إذابة قبل استخدامها في التصنيع. وعادة ما يتم خلط هذه الخميرة الجافة النشطة لحظياً مع المكونات الجافة المستخدمة في التصنيع الغذائي.

ويعيب هذا النوع من الخميرة الجافة سرعة امتصاصها للرطوبة، وحساسيتها للأكسوجين؛ لذا يجب تعبئتها في عبوات مفرغة هوائياً، أو في وجود غاز النيتروجين.

ب- خميرة البيرة *Brewers yeast*:

تشمل خميرة البيرة نوعين من الخمائر التابعة للجنس *Saccharomyces*، النوع الأول *S. cerevisiae* الذى يستخدم فى إنتاج نوع البيرة Ale؛ حيث تنمو خلايا هذه الخميرة وتتجمع سطحياً؛ مسببةً تخمراً سطحياً لبيئة التنمية *top fermentation*. وتنمو هذه الخميرة على حرارة ٢٠°م لفترة ٢-٦ أيام، ولا يمكنها تخمير سكر المليبوز *melibiose*.

أما النوع الثانى *S. carlsbergensis* (يسمى حالياً *S. uvarum*)، فيستخدم فى إنتاج نوع البيرة Lager؛ حيث تنمو الخلايا وتتجمع عند قاع وعاء التخمير. وينمو هذا النوع من الخميرة على حرارة ١٠-٢١°م لمدة ٨-١٠ أيام، كما يمكنها تخمير سكر المليبوز.

وتصنع خميرة البيرة باستخدام مستخلص حبوب الشعير المستنبتة (المولت)؛ حيث تتم تنميتها فى دوارق صغيرة الحجم، وتخضع لفترة حتى تستكمل نموها، ثم تنقل إلى دوارق أكبر حجماً... وهكذا لعدة مرات متتالية، تنتهى عند وعاء التخمر الصناعى. وتختلف السلالات المستخدمة فى إنتاج خميرة البيرة من شركة إلى أخرى. وعندما يصل الإنتاج إلى مرحلته النهائية يتم تعليق خلايا الخميرة فى محلول حمض فوسفوريك مع بير سلفات لحماية المنتج النهائى من التلوث البكتيرى، ويحفظ فى الثلاجة على حرارة صفر°م.

وبعد صناعة خميرة البيرة، تبقى بعض الخلايا التى يمكن الاستفادة منها فى صناعة مستخلص الخميرة، حيث تستعمل كمواد منكهة، أو يتم تجفيفها واستخدامها فى تجهيز علائق الحيوانات.

ج- خمائر المشروبات الكحولية المقطرة

yeasts for distilled beverage:

تختار سلالات خميرة تمتاز بتحملها لارتفاع نسبة الكحول فى البيئة، والتى تصل

إلى نحو ١٨٪-٢٠٪ كحول إيثانول. كما تتميز هذه السلالات بإنتاجها لمواد منكهة.

ومن أهم الأنواع المستخدمة فى صناعة المشروبات الكحولية المقطرة، سلالات من خمائر *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* أو *S. beticus* أو *S. baya-nus*. ويمكن إنتاج مثل هذه الخمائر فى صورة خميرة مضغوطة أو مجففة نشطة تشبه فى ذلك خميرة الخباز.

٢- الخمائر غير النشطة inactive yeasts :

تعتبر هذه الخمائر أحد الأنواع التى سبقت الإشارة إليها بعد بسترتها؛ حيث تفقد حيويتها، وتستعمل كمواد مضافة للأغذية؛ بغرض تحسين طعمها ونكهتها، ورفع قيمتها الغذائية.

٣- مستخلص الخميرة yeast extract :

يتخلف عن صناعة البيرة كميات كبيرة من خلايا الخميرة المستعملة فى التخمير، والتى يطلق عليها اسم «الكتلة الحيوية biomass». فعلى سبيل المثال، يتخلف عن صناعة كل برميل بيرة حوالى ٢٠٠ جرام من خلايا الخميرة الطازجة النشطة. وعلى ذلك، تعتبر صناعة البيرة مصدراً جيداً لخلايا الخميرة دون أية تكاليف إضافية؛ حيث تعتبر منتجاً ثانوياً مأموناً صحياً. ويتم الحصول على خلايا الخميرة بصورة نشطة، ثم يتم تحليلها - بطرق مختلفة - لإنتاج مستخلص الخميرة yeast extract.

ويستخدم مستخلص الخميرة فى عديد من الصناعات الغذائية؛ مثل منتجات اللحوم، أو الشوربات، أو الجبن المطبوخ، أو منتجات الخباز، أو الخضروات أو المأكولات البحرية، وغير ذلك من أنواع الأغذية الأخرى التى يصعب حصرها. ويعتبر مستخلص الخمير مصدراً جيداً لعدد من الأحماض الأمينية والبيتيدات

والفيتامينات والمعادن؛ حيث يستخدم فى تغذية الأطفال والبالغين، وكذلك فى تجهيز علف الحيوانات. ولكن يراعى استخدام مستخلص الخميرة فى المنتج الغذائى بنسبة لا تزيد على ٠,١ - ٠,٥ ٪؛ وذلك نظراً لأن التركيزات الأعلى من ذلك تعطى طعماً متخمراً.

ويستهلك من مستخلص الخميرة سنوياً نحو ٣٥ ألف طن، يبلغ ثمنها حوالى ١٩٠ مليون دولار، ويتم تجهيز مستخلص الخميرة بإحدى الطرق التالية:

١- التحلل الذاتى autolysis:

يتم ذلك عن طريق تنشيط إنزيمات التحلل الذاتى بخلايا الخميرة، والتى تعمل على تحليل مكوناتها على درجة حرارة معينة ورقم حموضة معين، وذلك فى نهاية طور ثبات النمو وبداية طور انهيار الخلايا وموتها.

وتستخدم النسبة بين الأحماض الأمينية الحرة وتركيز البروتين كمؤشر للتحكم فى درجة تحلل الخلايا؛ حيث إن كمية ونوع الأحماض الأمينية الحرة هى العامل الأساسى المباشر وغير المباشر فى التأثير على نكهة الغذاء.

ويتميز مستخلص الخميرة الناتج بطريقة التحلل الذاتى للخلايا باحتوائه على حمض الجلوتاميك فى صورة بيتيدات، وليس فى صورة حرة (جلوتامات أحادى الصوديوم)، على العكس من البروتينات النباتية المتحللة - مثل بروتينات فول الصويا أو القمح - فإنها تحتوى على حمض الجلوتاميك فى صورة حرة؛ نتيجة التحلل الحامضى، والذى يؤثر على نكهة الأطعمة المضاف إليها.

ب- التحلل البلازمى (البلمزة) plasmolysis:

تتبع هذه الطريق لإنتاج مستخلص الخميرة فى عددٍ من دول أوروبا، بينما لا يتم استخدامها فى الولايات المتحدة. وفى هذه الطريقة يضاف تركيز عالٍ من ملح الطعام (كلوريد الصوديوم) إلى خلايا الخميرة؛ مما يؤدي إلى فقد نسبة عالية من الماء

الداخلي، فتتبلزَم الخلية وتموت، وعندئذٍ تبدأ عملية التحلل الذاتي لها. وتتميز هذه الطريقة بسهولة إجرائها، وعدم احتياجها إلى أجهزة خاصة ولا إمكانات مكلفة؛ فهي تعتمد على كميات من ملح الطعام تتوفر في كل مكان وبسعرٍ منخفضٍ. ولكن يعيب هذه الطريقة ارتفاع ملوحة مستخلص الخميرة الناتج؛ مما يمنع استخدامه في إعداد المنتجات الغذائية المنخفضة الملوحة.

ج- التحلل المائي hydrolysis:

وهي أكثر الطرق كفاءةً في إنتاج مستخلص الخميرة تجاريًا؛ حيث يستخدم حمض الهيدروكلوريك على حرارة ١٠٠ م° لمدة ٦-١٢ ساعة، أو على حرارة أعلى من ذلك - تحت ضغط - ولوقتٍ أقصر.

وبعد انتهاء المعاملة السابقة، يعادل حمض الهيدروكلوريك المستخدم بواسطة أيدروكسيد الصوديوم؛ وذلك للوصول إلى رقم حموضة ٥-٦، ثم يتم ترشيح المحلول لفصل خلايا الخميرة؛ حيث يتم تركيزها وتجفيفها باستعمال طريقة الرذاذ؛ ويتم - بعد ذلك - الحصول على مسحوقٍ جافٍ لزيادة نسبة الرطوبة فيه على ٥٪.

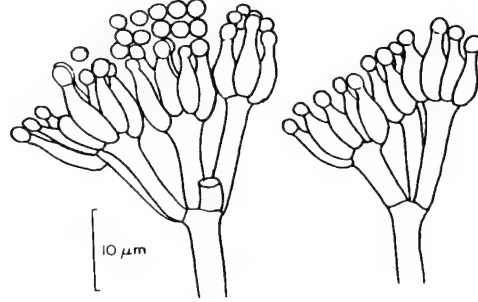
وبصفة عامة يفضل استخدام مستخلص الخميرة في مجال التصنيع الغذائي عن استخدام جلوتامات الصوديوم، وعن القواعد النووية (النيوكليوتيدات)؛ نظراً لأن مستخلص الخميرة مأمون صحياً بصورة أفضل من المواد الأخرى.

وعلى أية حال، تستخدم جلوتامات الصوديوم والنيوكليوتيدات 5'-nucleotides كمحسنات للطعم. ويمكن إنتاج مستخلصات ذات تركيزات عالية من النيوكليوتيدات ٥- جوانوزين أحادي الفوسفات 5'- guanosine monophosphate و ٥- إينوزين أحادي الفوسفات 5'- inosine monophosphate (5'- GMP) و ٥- إينوزين أحادي الفوسفات 5'- IMP).

ويتم استخلاص الأحماض النووية الريبوزية RNA من الخلايا بتسخين المعلق

الخلوى على درجة حرارة ٩٠-١٠٠م لمدة ١-٣ ساعات، ثم يضاف إنزيم ٥- فوسفو داي إستريز 5'-phosphodiesterase؛ الذى يعمل على تحليل الأحماض النووية الريبوزية وانفراد الجوانوزين - ٥ فوسفات، والايونوزين - ٥ فوسفات.

وينتج إنزيم ٥- فوسفو داي إستريز من الفطر *Penicillium citrinum*، وعند التحضين مع هذا الإنزيم تنتج نيوكليوتيدات أخرى؛ مثل اليوراسيل الأحادى الفوسفات، والأدينوزين الأحادى الفوسفات، والسيتوزين الأحادى الفوسفات.



شكل (٩٣) : الفطر *Penicillium citrinum*. رؤوس كونيدية conidial heads متفرعة إلى فروع قليلة أو كثيرة.

والأدينوزين الأحادى الفوسفات ليس من مركبات النكهة، ولكن يتم تحويله إلى أدينوزين أحادى الفوسفات عن طريق إنزيم *adenylic deaminase*. ويتميز المستخلص ذو المحتوى المعدل من النيوكليوتيدات بأن له طعماً مقبولاً ونكهة جيدة، كما أنه مأمون صحياً، بالإضافة إلى زيادة تأثيره المتعاون مع جلوتامات الصوديوم.

ويحتوى مستخلص الخميرة العادى على ٥٠-٦٠٪ بروتيناً، و ١٠-٢٠٪ رماداً، و ١٥-٢٧٪ كربوهيدرات، و ١،٠ - ٣،٠٪ دهوناً فى المتوسط، بينما ترتفع

نسبة البروتين في مستخلص الخميرة المنخفض الصوديوم إلى نحو ٧٠٪، ويستخدم مستخلص الخميرة في التصنيع الدوائي كمصدرٍ للفيتامينات ولبعض المعادن الهامة؛ مثل : الكروم، والزنك، والسلينيوم.

خامساً : إنتاج عيش الغراب:

تعتبر فطريات عيش الغراب مصدراً لغذاء الإنسان منذ بداية عهده على سطح الأرض. وكم تغذت الحيوانات العشبية على ثمار هذه الفطريات النامية بين الأعشاب، بل إن بعض الحيوانات تبحث عن هذه الثمار المغذية الشهية، وتختارها بعناية؛ وتجد في طلبها؛ ومثال ذلك: القوارض ، والحشرات.

ولقد عرف الرومان واليونانيون القدماء فطريات عيش الغراب بأنواعها المختلفة، وتعرفوا على الأنواع غير المأكولة والسامة *toadstools*، وأقبلوا على جمع الأنواع الأخرى المأكولة *mushrooms* التي استطابوا طعمها. ونظراً لقلّة ما كان متاحاً منها، فلقد استأثر بها الأغنياء والنبلاء دون بقية أفراد الشعب.

وشملت الأنواع المأكولة من عيش الغراب الكمأة *truffles*، والمورشيلات *morels*، والكرات النافخة *puffballs*، والفطريات المرجانية *coral fungi*، بالإضافة إلى الفطريات الجيلاتينية والفطريات الثقبية؛ مثل أنواع البوليتس *Boletus*.

وتعتبر ثمار الكمأة أغلى أنواع الفطريات المأكولة؛ حيث تجمع من أماكن انتشارها بواسطة الكلاب أو الخنازير المدربة؛ التي تهتدى إلى الثمار المدفونة تحت سطح الأرض عن طريق رائحتها العطرية الجميلة، وخاصة أنواع الكمأة القريبة من سطح الأرض. وتنمو الكمأة على جذور النباتات في علاقة تبادل منفعة، يطلق عليها اسم «الميكوريزا الخارجية *ectomycorrhiza*».

وتنتشر بعض أنواع الكمأة في تربة الغابات، ويطلق عليها اسم «كمأة الغابات» ،

بينما هناك أنواع أخرى تنتشر في الصحراء، وتعرف بكمأة الصحراء. وتنتشر كمأة الصحراء في الساحل الشمالي بمصر، وأيضاً في عديد من الدول العربية الأخرى؛ مثل المملكة العربية السعودية، والكويت، والعراق، وسوريا، وفي بعض دول المغرب العربي.

١ - القيمة الغذائية لفطريات عيش الغراب:

استخدم الإنسان البدائي ثمار عيش الغراب في غذائه منذ فجر التاريخ؛ لأنه كان نباتياً بالدرجة الأولى. وكان شكل الثمار ثم طعمها هما العاملين الأساسيين الذين اعتمد عليهما الإنسان في إقباله على طعام ما أو نفوره منه. وبعد عددٍ لانهاثي من التجارب، وجد هذا الإنسان - ومن معه من عشيرته - في ثمار عيش الغراب مصدراً جيداً وميسوراً من الغذاء الشهى.

وتحتوي ثمار عيش الغراب على حوالي ٩٠٪ من وزنها ماءً، بينما تتقاسم المكونات الصلبة نحو ١٠٪ فقط من وزنها. وينخفض محتوى هذه الثمار من الطاقة؛ حيث يحتوي كل ١٠٠ جرام ثمار طازجة على حوالي ٢٥ كيلو كالورى فقط.

ويمكن مناقشة القيمة الغذائية لثمار عيش الغراب على ضوء أهم محتوياتها الغذائية، وبمقارنتها بغيرها من الأغذية الأخرى التي يعتمد عليها الإنسان في حياته، وذلك من ناحية محتواها من الكربوهيدرات والبروتينات والدهون والأملاح المعدنية والفيتامينات؛ بالإضافة إلى الألياف والإنزيمات الهاضمة.

١- الكربوهيدرات :

يحتاج جسم الإنسان إلى كمية كبيرة من الطاقة، يستنفذها في الأنشطة الطبيعية التي يقوم بها، وفي الوظائف الفسيولوجية لأعضاء جسمه، وأيضاً للحفاظ على درجة حرارة الجسم ثابتة، وخاصة في الفصول الباردة.

وتمد المواد الكربوهيدراتية الجسم بكمية من الطاقة تقدر بأكثر من نصف الكمية

التي يولدها الجسم، بينما تلعب الدهون دوراً أقل في إمداد الجسم بما يحتاج إليه من الطاقة اللازمة.

ومعظم الكربوهيدرات الموجودة في ثمار عيش الغراب عبارة عن مانيتول، بينما تتفاوت محتوياتها من السكريات الأحادية والثنائية؛ مثل الجلوكوز، والفركتوز، والسكروز. ويحتوي كل ١٠٠ جرام وزناً طازجاً من ثمار عيش الغراب على ٤,٥ جرام كربوهيدرات، بينما يحتوي الكرنب على ٤,٨ جراماً، والطماطم على ٤,٠ جرامات، والبطاطس على ٢١,٠ جراماً، بينما تقل كمية الكربوهيدرات في الإسبرجس إلى ٢,٧ جراماً، وفي السبانخ إلى جرام واحد.

ب- البروتينات:

تلعب البروتينات دوراً هاماً في بناء أنسجة الجسم المختلفة وتعويض التالف منها، وكذلك في بناء الأجسام المضادة، والهرمونات اللازمة للنمو، والإنزيمات اللازمة للعمليات الحيوية المختلفة.

وتتوقف القيمة الحيوية للبروتينات على احتوائها على الأحماض الأمينية الأساسية التي يمكن لجسم الإنسان بناؤها بنفسه؛ وبالتالي يؤدي نقصها إلى اختلال التوازن البروتيني في الجسم.

ويبلغ عدد الأحماض الأمينية الأساسية اللازمة لنمو الإنسان عشرة أحماض؛ هي : الليوسين، والأيزوليوسين، والليسين، والمثيونين، والسيستين، والفينيل الانين، والتيروسين، والثريونين، والترتوفان، والفالين.

ويطلق على البروتينات التي تحتوي على جميع الأحماض الأمينية الأساسية اسم «البروتينات الكاملة»؛ مثل بروتينات عيش الغراب، بينما يطلق اسم «البروتينات الناقصة» على بروتينات الأغذية النباتية؛ مثل البقوليات. وتؤدي التغذية المستمرة على البروتينات الناقصة - دون الكاملة - إلى اختلال عمليات التحول الحيوي في جسم الإنسان؛ مما يسبب عدم نمو الجسم نمواً طبيعياً.

ويمكن مقارنة محتوى ثمار عيش الغراب من البروتينات الكلية بغيره من الخضروات واللحوم، مع الأخذ في الحسبان عدم توفر جميع الأحماض الأمينية الأساسية في بروتينات الخضروات.

فعلى سبيل المثال، يحتوى كل ١٠٠ جرام من ثمار عيش الغراب على حوالى ٥ جرامات بروتين، بينما يقل هذا المحتوى في الفول الأخضر إلى ٢,٢ جراماً، والبطاطس إلى ١,٨ جراماً، والكرنب إلى ١,٤ جراماً، بينما يزداد في اللحم البقرى إلى ١٩,٢ جراماً، وفي الدجاج إلى ١٢,٦ جراماً، وفي السمك إلى ٩,٢ جراماً.

وعلى ذلك يمكن اعتبار ثمار عيش الغراب ذات محتوى بروتيني يتوسط الخضروات واللحوم، فلا عجب أن يطلق عليها الأوربيون اسم «اللحم النباتي» vegeta-ble beef، ويخلطوها بالخضروات؛ لرفع نسبة البروتين الكامل في الوجبة الغذائية، وإضافة نكهة شهية إلى الوجبة الغذائية.

جدول (٢٣) : مقارنة القيمة الغذائية لثمار عيش الغراب ببعض الأغذية النباتية والحيوانية.

الدليل الغذائي Nutrition index	دليل الأحماض الأمينية Amino acids scores	دليل الأحماض الأمينية الأساسية Essential amino acids index
٥٩ لحم الدجاج	٩٨ لحم الدجاج	١٠٠ لحم بقرى
٤٣ لحم بقرى	٩١ اللبن	٩٩ اللبن
٣١ فول الصويا	٨٩ عيش الغراب	٩٨ عيش الغراب
٢٨ عيش الغراب	٦٣ كرنب	٩١ البطاطس - البسلة
٢٥ لبن	٥٩ بطاطس	٨٨ الذرة
٢١ بسلة	٥٣ فول	٨٦ الخيار
٢٠ فول	٥٠ ذرة	٧٩ الفول السوداني
١٧ كرنب	٤٦ بسلة	٧٦ فول الصويا

جـ - الدهون:

تعتبر الدهون المصدر الثانى الأساسى للطاقة فى جسم الإنسان، إلا أنها تعطى كميةً من الطاقة ضعف ما تنتجه المواد الكربوهيدراتية. ويمكن للجسم تخزين كميات كبيرة من الدهون تعمل كاحتياطي للطاقة، ولكن زيادتها على الحد المسموح به يهدد الجسم بأخطار السمنة ومشاكلها الصحية.

وثمار عيش الغراب فقيره فى محتواها من الدهون؛ حيث لا تتجاوز نسبة الدهون فى عيش الغراب ١٪. والدهون الموجودة فى ثمار عيش الغراب عبارة عن إستيرولات؛ وأحماض دهنية غير مشبعة، ولا تشكل خطورة على صحة الإنسان.

وعند مقارنة الدهون الموجودة فى ثمار عيش الغراب بالدهون الحيوانية، نجد أن الأخيرة تحتوى على أحماض دهنية مشبعة، تسبب زيادة فى كوليسترول الدم؛ مما يترتب عليه مشاكل صحية لاحصر لها.

وتعمل زيادة الدهون الحيوانية (خاصة الكوليسترول) فى جسم الإنسان على تراكمها تحت الجلد، وداخل تجويف البطن، وحول الكلى، ويطرسب جزء من هذه الدهون على جدر الشرايين، فيقلل من مرونتها، وتتصلب (مرض تصلب الشرايين)، كما يسبب ذلك ارتفاع ضغط الدم، وما يتبعه من أمراض عديدة أخرى.

ويعتبر انخفاض محتوى الدهون فى ثمار عيش الغراب من المميزات الغذائية التى تجعله مصدراً بروتينياً خالياً من الدهون، كما أن الدهون الموجودة فيه تحتوى على ستيرولات، وهى تعمل على إعاقه تمثيل الكوليسترول الضار بصحة الإنسان. وأيضاً يتحول الأرجستول الموجود فى ثمار عيش الغراب إلى فيتامين D فى الجسم خلال تعرض الإنسان لأشعة الشمس.

ونظراً لانخفاض مستوى الدهون فى ثمار عيش الغراب، فإنها تعتبر أحد الأغذية المنخفضة الطاقة - دايت Diet - التى يهتم بها محبو الرشاقة، ومتبعو الأنظمة الخاصة فى التغذية (الرجيم).

د- الأملاح المعدنية:

تعتبر ثمار عيش الغراب مصدراً هاماً للأملاح المعدنية؛ مثل : البوتاسيوم، والفوسفور، والحديد، والنحاس، بينما محتواها من الكالسيوم قليل. وعلى ذلك فإن التغذية على ثمار عيش الغراب تؤدي إلى تنشيط العمليات الحيوية في جسم الإنسان، وتحسن في الدورة الدموية، كما يساعد الحديد على بناء هيموجلوبين الدم.

ويصل محتوى ثمار عيش الغراب من الأملاح المعدنية إلى حوالى جرام واحد لكل ١٠٠ جرام وزناً طازجاً، بينما تقل هذه الكمية في الأسبرجس إلى ٠,٦ جراماً، وفي اللبن إلى ٠,٧ جراماً، وفي اللحم البقري إلى ٠,٥ جراماً فقط.

هـ- الفيتامينات:

يحتاج جسم الإنسان إلى الفيتامينات بكميات قليلة لتنظيم التمثيل الغذائي. وحيث إن الجسم لا يستطيع تخزين بعضها، فإنه يجب الحصول عليها بصورة مستمرة ودائمة من الأغذية التي تحتوي عليها.

ونظراً للمحتوى العالي من الماء في ثمار عيش الغراب (حوالى ٩٠٪)، والمحتوى المنخفض من الدهون (حوالى ١٪)، فإن الفيتامينات الموجودة في ثمار عيش الغراب هي تلك التي تذوب في الماء؛ مثل مجموعة فيتامين B ومنها حمض النيكوتينيك nicotenic acid، والريبوفلافين riboflavin، وحمض البانتوثنيك panto-thenic acid، بالإضافة إلى كميات بسيطة من حمض الفوليك folic acid، والكولين colin، والبيوتين biotin، وأيضاً فيتامين C.

ولا توجد في ثمار عيش الغراب الفيتامينات التي تذوب في الدهون؛ وهي فيتامينات A, D, E, K، إلا أن هذه الفيتامينات يمكن للجسم الاحتفاظ بها واختزانها في دهون الجسم لحين الحاجة إليها، ولا تفقد عن طريق البول، كما هي الحال في الفيتامينات التي تذوب في الماء.

و - الألياف :

تكاد تخلو ثمار عيش الغراب من الألياف غير القابلة للهضم؛ وذلك بعكس الحال في معظم الخضروات الأخرى التي تبقى منها نسبة من الألياف التي لا تهضم؛ فعلى سبيل المثال يحتوى كل ١٠٠ جرام من الطماطم الطازجة على حوالى جرامى ألياف، بينما تصل هذه الكمية إلى ٢٠ جراماً فى الجزر.

ز - الإنزيمات الهاضمة :

تتميز ثمار عيش الغراب باحتوائها على إنزيم التربسين *trypsin* الذى يساعد على الهضم، والذى يفرز فى الجسم عن طريق البنكرياس. ويساعد هذا الإنزيم على هضم البروتينات؛ مما يجعل من تناول وجبة تحتوى على بعض ثمار عيش الغراب غذاءً سهل الهضم.

٢ - القيمة الطبية لفطريات عيش الغراب :

زاد الاهتمام العالمى بفطريات عيش الغراب ذات الاستخدامات العلاجية منذ اكتشاف المضادات الحيوية كالبنسلين. ومع مرور الوقت، ظهرت عديد من المضادات الحيوية ذات التأثيرات المثبطة أو القاتلة لعددٍ من الكائنات الحية الدقيقة الضارة بصحة الإنسان؛ مثل البكتيريا والفطريات والبروتوزوا.

كما أوضح البحث العلمى أن بعض المواد الفعالة المستخلصة من أنواع معينة من فطريات عيش الغراب البرية تؤثر على الخلايا السرطانية، ويمكنها علاج بعض حالات أمراض السرطان فى الإنسان.

وفى عام ١٩٣٠ أظهرت بعض الدراسات التى أجريت فى ألمانيا قدرة بعض نواتج تخمر أنواع معينة من ثمار فطريات عيش الغراب - مثل تلك الأنواع التابعة للأجناس *Agaricus*، و *Merulius*، و *Phallus* - على تضاد النموات السرطانية.

وبعد ذلك بنحو عشرين عاماً، وجد أن المستخلص المائى لفطر عيش غراب

البوليتس *Boletus edulis* له تأثير مثبط على نمو الأورام الخبيثة التي تظهر في الأنسجة الضامة في فئران التجارب البيضاء. وفي عام ١٩٥٩ عزل الباحث *Lucas* وزملاؤه مادة الكالفاسين *calvacin* من ثمار فطر عيش الغراب الكرات النافخة -*Calva* *tia gigantea*، ووجدوا أن لهذه المادة تأثيراً مثبطاً على نمو الأورام الخبيثة *Sarcoma* 180 في الفئران البيضاء.

ومنذ ذلك الحين، اهتمت عديد من الدول الأخرى؛ مثل اليابان والولايات المتحدة وغيرهما بهذا التأثير التضادى على نطاق واسع، ثم انضمت الصين إلى هذا الفريق البحثي بعد ذلك. ولقد أظهرت نتائج الأبحاث أن المادة الفعالة التي تثبط نمو الأورام الخبيثة عبارة عن سكرٍ معقدٍ ناتجٍ عن فطرٍ بازيديّ -*basidiomycetous poly-saccharide*.

وباستكمال هذه الأبحاث العلمية، وجد أن هذه السكريات الفطرية المعقدة تعمل على زيادة مقاومة جسم المريض ضد نمو الأورام؛ وذلك بتشجيعها لتكوين المواد المضادة للفيروس *interferon*، كما تعمل على قتل الخلايا المتورمة دون الأخرى السليمة.

وفي المؤتمر السنوى اليابانى لأبحاث السرطان *The Japanese Cancer Research Conference*؛ الذى انعقد فى مدينة ساندائى *Sandai* عام ١٩٧٤، تمت مناقشة آلية فعل السكريات المعقدة البروتينية *proteinous polysaccharides* الناتجة من فطر عيش الغراب الرقيق *Coriolus versicolor*؛ الذى ينمو على جذوع الأشجار ذات الخشب الصلب.

ولقد اعتبرت هذه السكريات المعقدة من العوامل المساعدة على تثبيط نمو الأورام الخبيثة فى حيوانات التجارب. ويرجع ذلك - فى المقام الأول - إلى تثبيط انتقال العامل المسبب للسرطان من مقره الأساسى إلى أجزاء الجسم الأخرى السليمة؛ وذلك عبر العقد الليمفاوية.

وفى هذا المجال، اشتركت عديد من المعاهد البحثية والهيئات العلمية الأخرى فى

إجراء مزيد من الأبحاث على أنواع مختلفة من فطريات عيش الغراب البرية الأخرى ذات التأثيرات العلاجية؛ مثال ذلك فطر عيش الغراب ذو الثقب *Polyporus umbellatus*.

ومع مرور الوقت واستمرار هذه الأبحاث، تم اكتشاف حوالي ٦٠ نوعاً من فطريات عيش الغراب ذات التأثير المثبط على نمو الخلايا السرطانية. ولقد وجد أن بعض هذه الفطريات يستخدم فعلاً كغذاء صحي مفيد في دول شرق آسيا؛ مثال ذلك فطر عيش غراب الشيتاكي (*Lentinus edodus*) Shii-Taki؛ حيث يعتبر هذا الفطر غذاءً ودواءً في وقت واحد؛ لذا يطلق عليه اسم «الغذاء الصحي المتكامل wholesome food».

وهناك أنواع أخرى من فطريات عيش الغراب تستعمل في الطب الشعبي لعلاج أمراض متنوعة؛ مثال ذلك استخدام ثمار فطر عيش غراب العسل - *Armillaria tabes cens* في الصين لعلاج التهاب المرارة، ومرض التهاب الكبد الحاد والمزمن؛ نظراً لاحتواء هذا الفطر على مادة *armillarisia A,B*.

وتعمل بعض فطريات عيش الغراب المأكولة على خفض كوليسترول الدم؛ وأهم هذه الفطريات: فطر عيش غراب الشيتاكي، وفطر عيش الغراب العادي، وفطر عيش غراب آذان الشجر *Auricularia polytricha*.

وبالإضافة إلى ما سبق، توجد أنواع أخرى من فطريات عيش الغراب البرية غير المأكولة - مثل فطر عيش الغراب الرفي ذي الثقب *Pyropolyporus fomentarius* - تحتوي على مواد فعالة تخفض من نسبة الكوليسترول في الدم.

ومن ناحية أخرى، أظهرت الدراسات العلمية الحديثة أن الجرعات الصغيرة من بعض فطريات عيش الغراب السامة - مثل فطر عيش غراب الذبابة *Amanita muscaria* - لها تأثير مهدئ للأعصاب، وتساعد على النوم الهادئ.

وفى دراساتٍ أخرى، وجد أن الفطر *Ioncybe fastigiata* - وهو أحد فطريات عيش الغراب السامة - يعالج بعض الأمراض الجلدية؛ مثل الإكزيما *eczema*. كما وجد - أيضاً - أن بعض فطريات عيش الغراب البرية تنتج حمضاً عضوياً هو *eburicoic acid*؛ الذى يمكن استعماله فى تخليق بعض الأستيرولات الطبية، كما هى الحال فى فطريات عيش الغراب الثقبية؛ مثل *Poria cocos*، و *Fomitopsis officinalis*، بالإضافة إلى أحد أنواع فطر عيش غراب الشيتاكي *Lentinus lepideus*.

ولقد وجد - مؤخراً - أن بعض فطريات عيش الغراب تنتج مضادات حيوية؛ مثال ذلك فطر عيش غراب السحاب *Agaricus nebularis*؛ الذى ينتج المضاد الحيوى *ne-bularin*؛ الذى يضاد الميكوبلازما، بالإضافة إلى تأثيره الفعال ضد الخلايا السرطانية.

كما وجد بعض الباحثين أن مستخلص ثمار فطر عيش غراب الشيتاكي يحتوى على مواد مضادة لفيروس الإنفلونزا *A/SW15*؛ حيث يظهر تأثيرها عن طريق حث الجسم على تكوين مواد مضادة للفيروس *interferon*. وقد يؤدى الحمض النووى الريبوزى *RNA* الموجود فى مستخلص ثمار فطر عيش غراب الشيتاكي إلى حث جسم الإنسان على تكوين هذه الأجسام المضادة.

ومن أحدث الأبحاث الطبية العلاجية فى هذا المجال ما ذكره *W. Wright* فى كتابة الصادر عام ١٩٩٢ عن قدرة بعض فطريات عيش الغراب على مقاومة بعض أمراض السرطان *anticarcinogenic effect*، وحماية الجسم من فقد مناعته الطبيعية (الإيدز *Acquired immunodeficiency Syndrome (AIDS)*).

ولا يثير دهشتنا اكتشاف مزيد من فطريات عيش الغراب - سواء المأكولة أم غير المأكولة - ذات التأثيرات العلاجية لبعض الأمراض الخطيرة للإنسان، وخاصة تلك التى لم يكتشف لها علاجاً ناجحاً حتى اليوم.

٣- تاريخ زراعة عيش الغراب:

تعود زراعة عيش الغراب إلى ثلاثة قرونٍ خلت، حين اكتشف الفرنسيون كيفية زراعة عيش الغراب على الكومبوست الناتج من تخمر بعض المخلفات الزراعية؛ وذلك بمدينة باريس؛ حيث تمت بنجاح زراعة فطر عيش الغراب العادى من الجنس *Agaricus*.

ولقد تلا ذلك محاولات أخرى ناجحة، لعل أكثرها شهرةً ما حققه الفرنسي *La Quintinie* عام ١٦٧٠ بزراعة فطر عيش الغراب العادى فى الحديقة الملكية للملك لويس السادس عشر، وبعد ذلك بنحو ثمانى سنواتٍ نجح *Madhaut* فى زراعة عيش الغراب العادى على روث الخيل المتحلل.

وكان أول وصفٍ علميٍ لطريقة زراعة عيش الغراب هو ما قام به العالم الفرنسى *Tournefort* عام ١٧٠٧؛ حيث اتبع طريقة تغطية الكومبوست بالتربة فيما يسمى بطبقة التغطية، ومازالت هذه الطريقة متبعة حتى الآن فى زراعة عيش الغراب مع بعض التعديلات البسيطة.

وفى عام ١٧٥٤ وصف العالم السويدى *Lundberg* الشروط الواجب مراعاتها عند زراعة عيش الغراب فى المناطق المفتوحة، بينما وصف *Chombry* عام ١٨١٠ طريقة زراعة عيش الغراب العادى فى المناجم الموجودة تحت سطح الأرض. وأمكن الحصول على أول محصولٍ تجاريٍّ من عيش الغراب العادى تمت زراعته داخل كهوفٍ فى هولندا عام ١٨٢٥.

ولقد تأخر دخول الولايات المتحدة فى زراعة عيش الغراب العادى إلى عام ١٨٦٥، لكنهم ابتكروا طريقةً لزراعة عيش الغراب داخل الصوبات الزراعية.

أما بالنسبة إلى إنتاج تقاوى لسلاسلٍ تجاريةٍ من عيش الغراب، فلقد تم ذلك فى فرنسا لأول مرةٍ عام ١٨٩٤، وطور الأمريكان ذلك عام ١٩٠٥؛ وذلك عن

طريق الباحث **Duggar**؛ الذى لجأ إلى طريقة مزارع الأنسجة؛ للحصول على نموات فطرية من نسيج ثمرة عيش الغراب، دون أن تتغير صفات السلالة.

واستمر احتكار الفرنسيين لأسرار صناعة التقاوى بطريقة تجارية حتى بداية القرن الحالى، ولكن فى عام ١٩٣١ استطاعت وزارة الزراعة الأمريكية إنتاج ميسليوم فطري يستعمل كتقاوى، ثم طورت زراعة عيش الغراب على أرفف - بعد ذلك - بثلاث سنوات؛ مما ضاعف من إنتاج الثمار.

وفى عام ١٩٥٥ أدخل الفرنسيون الميكنة فى زراعة عيش الغراب؛ مما ساعد على إنشاء المزارع التجارية الضخمة مع تقليل تكاليف الإنتاج؛ ومازال الفرنسيون يحتفظون بالسبق فى هذا المجال، حتى أطلق عليهم بحق «رواد زراعة عيش الغراب فى العالم».

٤- أهمية زراعة عيش الغراب فى دول العالم الثالث:

يتزايد تعداد سكان العالم - خاصة فى دول العالم الثالث - زيادة كبيرة؛ فالوسائل الطبية الحديثة قد خفضت معدل الوفيات كثيراً، كما أطالت حياة الإنسان مدةً لا بأس بها، وأصبح الأطفال الذين يبلغون سن الرشد - الآن - أكثر بكثير من ذى قبل.

وهؤلاء الأطفال يتزوجون عندما يبلغون سن الرشد، وينجبون أولاداً أكثر، حتى واجهت العالم اليوم مشكلة خطيرة، وهى إطعام هذه البلايين المتزايدة من البشر؛ فإذا لم تتمكن من تنظيم هذه الزيادة الرهيبة فى أعداد السكان، فلا مناص من توفير الطعام الكافى لهم، وإلا هلكوا جوعاً.

وتؤدى زيادة السكان إلى تلوث البيئة بجميع عواملها، بداية من تراكم المخلفات إلى الضجيج؛ وهذا يزيد من مسؤوليات الحكومات تجاه البيئة، وأيضاً نحو رعايتها من السكان.

ومن المعروف أن نحو ثلثى العالم يعيشون على طعام ناقص فى قيمته الغذائية - وخاصة البروتين - ولقد أدى ذلك إلى اعتماد السكان على الأغذية النباتية فى

طعامهم، حتى أصبحوا نباتيين إجباراً؛ وذلك نظراً لارتفاع أسعار المصادر الطبيعية للبروتينات، بما لا يقدر عليه هؤلاء.

ولقد أدركت كثير من المنظمات العالمية المهمة بالصحة والتغذية والسكان ذلك، حيث أوضحت أهمية الاعتماد على مصادر غير تقليدية لتغذية شعوب العالم الثالث، وعلى رأس هذه المواد المغذية مصادر بروتينية من الأحياء الدقيقة، تعرف باسم «البروتين الميكروبي»، كما هي الحال في فطريات عيش الغراب.

وفي نفس الوقت تتراكم أطنان لاحصر لها من المخلفات العضوية في دول العالم الثالث دون استخدام؛ وهي ثروة قومية على أية حال إذا أحسن استغلالها فيما يفيد.

وحيث إن زراعة عيش الغراب تتم على مثل هذه المخلفات العضوية، بحيث يمكن إنتاج كيلو جرام من ثمار عيش الغراب من كل كيلوجرامين من هذه المخلفات الجافة، فإنه يمكن تخيل كمية الإنتاج القومي من عيش الغراب التي يمكن إنتاجها دون تكاليف كبيرة أو تقنية عالية.

ولعل هذه العجالة توضح أهمية زراعة عيش الغراب في دول العالم الثالث، مستفيدة من المخلفات العضوية التي قد تلوث البيئة، ومحوّلة إياها إلى علف غير تقليدي يصلح لتربية حيوانات اللحم، ومنتجة لثمار عيش الغراب ذات القيمة الغذائية العالية، وموفرة فرص عمل لا حصر لها.

جدول (٢٤) : كمية المخلفات الزراعية في العالم (عام ١٩٨٩)

كمية المخلفات (بالألف طن)	نوع المخلف الزراعي
٢,٩٤٦,٠٤٠	قش المحاصيل النجيلية (قمح - أرز - ذرة)
١٦٦,١٧٨	مخلفات المحاصيل البقولية (فول - بسله - فول صويا)
١٤١,٦٧٤	مخلفات المحاصيل الزيتية (فول سوداني - عباد الشمس - سمسم)
٥٤٨,٠٢٦	مخلفات محاصيل أخرى (بن - قصب سكر - قطن)

٥- زراعة عيش الغراب العادى:

يعتبر عيش الغراب العادى *common (button) mushroom* أكثر أنواع عيش الغراب المنزوعة تجارياً شهرةً وانتشاراً؛ حيث تتميز ثماره بالقبعات البيضاء ذات الشكل الكروى، وهى تتفتح عند نضجها، وإن كان ذلك غير مرغوب تجارياً؛ لذا يعتمد المزارعون إلى قطف الثمار وهى مازالت مقفولة فى طور النمو الزرارى *button stage*. والثمار فى هذه المرحلة تكون كروية متماسكة، قابلةً للتخزين فترةً طويلةً تحت ظروف التبريد (٢-٤م°)، كما أنها تتحمل التعليب دون أن تتفكك أنسجتها، حتى لو كانت هذه الثمار مقطعةً إلى شرائح. وتتميز الثمار المقفولة بأن جراثيمها فاتحة اللون؛ وبالتالي تجد قبولا لدى المستهلك بالمقارنة بالثمار المتفتحة ذات الجراثيم السوداء.

وهناك أنواع تجارية عديدة تابعة للجنس *Agaricus*، تختلف فيما بينها فى حجم الثمرة، ولونها، وملمسها، وقابليتها للتخزين، ومقاومتها للأمراض، وسرعة إثمارها، وكمية المحصول، وغير ذلك من صفات تجارية عديدة. ومن أهم الأنواع التجارية التابعة لهذا الجنس الفطران *A. bisporus*، و *A. campestris*.



شكل (٩٤) : الأجسام الثمرية لفطر عيش الغراب العادى فى مراحل نضج مختلفة.

جدول (٢٥) : أهم فطريات عيش الغراب التجارية المزروعة وإنتاجها السنوى.

الإننتاج السنوى بالآلاف طن	الاسم العلمى	الاسم التجارى	مسلسل
١٠٢٢	<i>Agaricus bisporus, A. bitorquis</i>	عيش الغراب العادى	١-
٢٣٤	<i>Lentinus edodes</i>	عيش غراب الشيتاكي	٢-
٦٥	<i>Volvariella volvacea</i>	عيش غراب القش	٣-
٦٠	<i>Flammulina velutipes</i>	عيش غراب الشتاء	٤-
٤٠	<i>Pleurotus spp.</i>	عيش الغراب المحارى	٥-
٤٢	<i>Auricularia auricula - juda</i>	عيش غراب آذان الشجر	٦-
١,١	<i>Stropharia rugosa - annulata</i>	عيش الغراب ذو القبعية البنية	٧-
٠,٧	<i>Coprinus comatus</i>	عيش غراب اللحية الشعثاء	٨-
٢٣,٢		أصناف أخرى من عيش الغراب	٩-
١٤٨٨		إجمالى الإنتاج العالمى	

أ - تجهيز الكومبوست:

يعتبر الكومبوست الجيد هو العامل المحدد لنجاح زراعة عيش الغراب العادى والحصول على محصول جيد منه. ويمكن لمزارع عيش الغراب تجهيز الكومبوست بنفسه؛ وذلك باستخدام المواد الأولية المتاحة بتكاليف محدودة، ولكن يجب الإلمام الجيد بمراحل تجهيز الكومبوست وبسترته.

ويستعمل - عادةً - روث الخيل المخلوط بالقش المستعمل فى فرش الإسطبلات فى تجهيز الكومبوست اللازم لزراعة هذا الفطر؛ حيث يعتبر هذا الكومبوست نموذجياً لاحتوائه على جميع العناصر الغذائية اللازمة لنمو هيفات الفطر؛ والذى يطلق عليه اسم الكومبوست الطبيعى **natural compost**.

وعند وصول روث الخيل المخلوط بالقش إلى المزرعة، يكوم هذا المخلوط تحت مكان مسقوف، ويرش بالماء إذا كان جافاً، ويترك لمدة حوالى أربعة أيام حتى تنشط الأحياء الدقيقة الموجودة، وتقلب الكومة، ويعاد تكويمها؛ بحيث يكون ارتفاعها وعرضها نحو متر ونصف المتر، بينما يختلف طولها تبعاً لكمية الكومبوست.

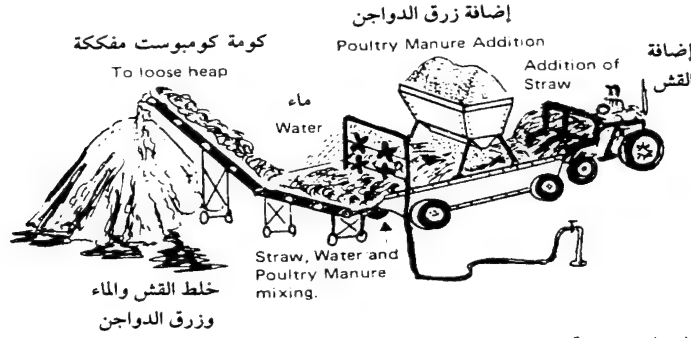


شكل (٩٥) : جمع القش المخلوط بروث الخيل وترطيبه

وتقلب الكومة السابقة بعد حوالى ثلاثة أيام؛ حيث تبلل بالماء، ويضاف الجبس الزراعى بمعدل ٢٥ كيلو جراماً للطن. كما يجب رش الكومة بمطهر حشريّ للقضاء على الذباب والحشرات الأخرى التى تتجمع عليه.

ويتم قلب الكومة عادة يدوياً إذا كانت كميتها صغيرة، ولكن فى حالة الكميات الكبيرة يتم التقلب آلياً باستعمال ماكينة التقلب والمخلط **mixing machine** (شكل ٩٦) والتى ترطب القش فى نفس الوقت. ويلاحظ أن الكومبوست المخلوط آلياً يكون أكثر تجانساً وجودةً من ذلك الذى يتم خلطه يدوياً.

وفى حالات كثيرة لايتوافر روث الخيل بكميات مناسبة لتجهيز الكومبوست الطبيعى، لذلك يمكن استخدام مواد أخرى لتجهيز الكومبوست؛ مثل زرق الدواجن، أو الأسمدة النيتروجينية؛ حيث يطلق على هذا الكومبوست اسم «الكومبوست الصناعى **synthetic compost**».



شكل (٩٦) : ماكينة خلط مكونات الكومبوست المستعمل في زراعة عيش الغراب العادى باستعمال زرق الدواجن

وتجب إضافة الجبس الزراعى بمعدل ٥٪ إلى الكومبوست خلال تجهيزه؛ حيث يعمل ذلك على تحسين قوام الكومبوست ويمنع لزوجه، كما يحتفظ برقم الحموضة قريب من التعادل. وتزداد الكمية المضافة من الجبس الزراعى فى حالة استعمال زرق الدواجن فى تجهيز الكومبوست؛ حيث يعمل على تحويل حمض الأكساليك الناتج عن تخمر المادة الصلبة للكومبوست إلى ملح أكسالات كالسيوم.

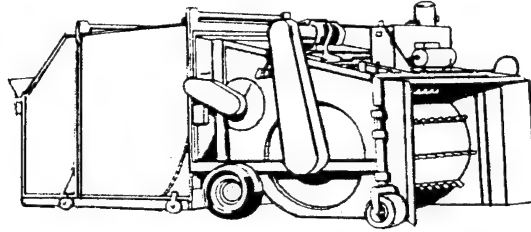
وفى حالة استعمال كبريتات الأمونيوم كمصدر للنيتروجين بدلاً من زرق الدواجن وروث الخيل، تجب إضافة كمية من الجير (كربونات كالسيوم) بمعدل حوالى ١٥-٢٠ كيلو جرام لكل طن كومبوست؛ وذلك بغرض معادلة حمض الكبريتيك الناتج عن تحليل كبريتات الأمونيوم.

وعلى ذلك تعتمد المرحلة الأولى من تجهيز الكومبوست (phase I) على تخمر المواد الصلبة المستعملة فى الزراعة بالاعتماد على الأحياء الدقيقة (تخمر مواد صلبة composting)؛ حيث تتم هذه المرحلة - عادةً - فى مكانٍ مسقوفٍ لحماية الكومبوست من أشعة الشمس المباشرة وسقوط الأمطار.

والهدف الرئيسى من تخمر المواد العضوية هو إعداد كومبوست جيد؛ يُسهّل لهيفات فطر عيش الغراب النمو خلاله، والحصول على احتياجاتها الغذائية منه؛ بحيث تنتج فى النهاية محصولاً جيداً من الثمار.

وفى نهاية هذه المرحلة، يجب أن تكون مكونات الكومبوست رطبة، ولكنها ليست مبللة حتى يتوفر قدر كافٍ من التهوية داخل الكومبوست، يسمح لهيفات الفطر بالنمو والنشط متخللةً جميع المكونات. كما يجب الاهتمام بالتقليب الجيد لمكونات الكومبوست؛ حيث يستمر إعداده حوالى ٧-١٢ يوماً.

وفى المزارع العملاقة لعيش الغراب فى أوروبا، يتم تجهيز الكومبوست باستعمال ماكينات خلط وتقليب عملاقة Turner، يمكنها تقليب كميات كبيرة منه تتراوح بين ٢٥ - ٦٠ طن كومبوست فى الساعة تبعاً لطراز الماكينة (شكل ٩٧).



شكل (٩٧) : ماكينة التقليب العملاقة المستخدمة فى تجهيز الكومبوست.

وخلال تخمير الكومبوست (المرحلة الأولى phase I) يبدأ نشاط الميكروبات الهوائية أولاً؛ حيث تستهلك الأكسوجين الموجود داخل الكومة، وعندما تبدأ درجة الحرارة فى الارتفاع، تنشط الميكروبات المحبة للحرارة العالية؛ والتي تحتاج إلى الهواء بكمية قليلة، بينما تثبط بقية الميكروبات الأخرى.

وينتج من تحلل المواد العضوية بواسطة هذه الميكروبات أمونيا وثاني أكسيد الكربون، كما يتبخر كثير من الماء من كومة الكومبوست خلال النشاط الميكروبي؛ نتيجة ارتفاع درجة الحرارة؛ لذلك يجب تقليب الكومة كل فترة؛ للتخلص من الأمونيا وثاني أكسيد الكربون، ولتوفير الأكسجين اللازم لنشاط هذه الميكروبات. كما تجب إضافة كميات مناسبة من الماء حتى لا يجف الكومبوست خلال إعداده؛ مما يؤدي إلى تثبيط النشاط الميكروبي.

ويضاف الجبس الزراعي أثناء تقليب الكومبوست؛ حيث يعمل ذلك على تقليل اللزوجة الناتجة من تحليل المادة العضوية؛ ومن ثم لا تلتصق وحدات القش بعضها ببعض، ويظل الكومبوست مسامياً؛ فيتخلله الهواء. ويجب تجنب وجود ظروف لاهوائية داخل الكومبوست خلال إعداده؛ لأن ذلك يؤدي إلى تكوين مواد ضارة بنمو هيفات فطر عيش الغراب.

ويتم خلال تجهيز الكومبوست استهلاك المركبات الكربوهيدراتية البسيطة بفعل الميكروبات النشطة التي تتغذى على السكريات والنشا والبكتين، بينما يتبقى السيليلوز واللجنين وغيرهما من مواد معقدة دون تحلل، والتي تنمو عليها هيفات فطر عيش الغراب وتحللها.

ويراعى عدم ضغط كومة الكومبوست خلال تجهيزها؛ حتى لا تفقد مساميتها، وتصبح الظروف داخلها لاهوائية. كما أن إضافة كميات زائدة من الماء على كومة الكومبوست أثناء تقليبها يعمل على تقليل الهواء داخلها، بينما يؤدي تقليل الماء المضاف - عن الحد اللازم - إلى جفاف الكومبوست وتثبيط النشاط الميكروبي المستول عن التخمر.

وفي نهاية هذه المرحلة يتلون الكومبوست بلون بني، ويكون ذا رائحة مقبولة، كما أن القش المستخدم في تجهيز الكومبوست يصبح سهل القطع. وعندئذ تبدأ المرحلة الثانية (phase II) التي تتم فيها بستر الكومبوست على حرارة ٢٥٨-٢٦٠ م

لمدة ٣-٥ ساعات بغرض قتل الميكروبات الضارة والحشرات والنيماطودا؛ التي قد تكون ملوثة لمكونات الكومبوست.

ويتم في هذه المرحلة التخلص من الأمونيا التي يصل تركيزها في الكومبوست إلى حوالي ٠,٠٧٪ أو أكثر. وتعتبر هذه النسبة من الأمونيا قاتلة لهيفات فطر عيش الغراب المراد زراعته. ولا يمكن الاعتماد على حاسة الشم للحكم على وجود الأمونيا في الكومبوست؛ وذلك لعدم قدرة الإنسان العادى على تمييز رائحتها، إلا إذا زاد تركيزها على ١,٠٪.

وبعد الانتهاء من بسترة الكومبوست، يترك في حجرة البسترة لفترة حوالي أسبوع؛ حيث تنخفض درجة الحرارة تدريجياً من ٦٠°م إلى درجة حرارة الغرفة (حوالي ٢٥°م). وفي خلال هذه الفترة يستكمل الكومبوست التغيرات الطبيعية والكيميائية الخاصة به؛ حيث يتحول - بعد ذلك - إلى بيئة نموذجية لنمو هيفات فطر عيش الغراب.

وفي أثناء البسترة، يتم قتل البكتيريا؛ حيث تتحلل خلاياها الميتة إلى نيتروجين عضويّ يتحد مع مكونات الكومبوست مكوناً معقداً من السيليلوز واللجنين والبروتين العضوي، الذي يكون المصدر الأساسى لتغذية هيفات الفطر.

ب- تعبئة الكومبوست وإضافة التقاوى:

بعد انتهاء المرحلة الثانية من إعداد الكومبوست، تكون المادة العضوية المجهزة صالحة لزراعة عيش الغراب العادى فيها، وذلك بإضافة تقاوى الصنف المناسب. وتتم تعبئة الكومبوست المجهز في أشكالٍ مختلفةٍ من الأوعية المستخدمة في الزراعة.

وقد يعبأ الكومبوست في أكياسٍ مثقبةٍ من البولي إيثيلين سعة الكيس الواحد حوالي عشرة كيلو جرامات، ويتم رصّها على أرففٍ بعد إضافة التقاوى خلال التعبئة،

أو قد يعبأ في أرفف معدنية متحركة على حوامل؛ بحيث يزن المتر المربع من الكومبوست في الرف (بعمق ١٧ سنتيمتراً) حوالى ٨٠ - ١٠٠ كيلو جرام.

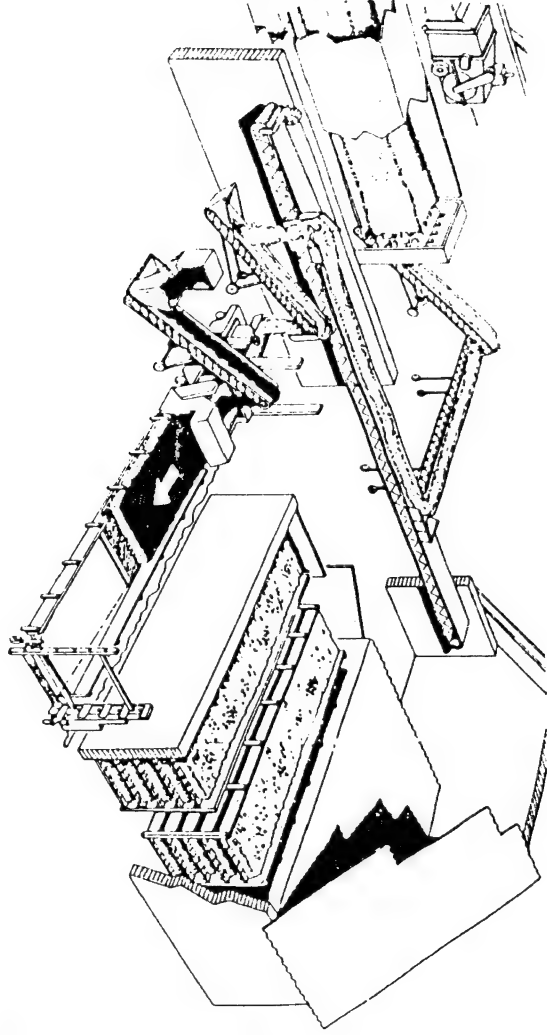
وتضاف التقاوى إلى الكومبوست بمعدل كيلو جرام تقاوى لكل مترين مربعين من الكومبوست؛ أى بمعدل ١٪ من الوزن. ويمكن زيادة نسبة التقاوى عن ذلك إذا رغب المزارع فى إسراع نمو الفطر فى الكومبوست، والتغلب على نمو الميكروبات الضارة.

ويتبع - عادةً - نثر التقاوى بطريقة ميكانيكية فى المزارع الكبيرة؛ حيث تستعمل لهذا الغرض ماكينة خاصة؛ عبارة عن خزان علويّ توضع به تقاوى عيش الغراب بعد فركها؛ حتى يسهل توزيعها. وتتساقط وحدات التقاوى إلى أسفل على الكومبوست المجهز على سير متحرك.

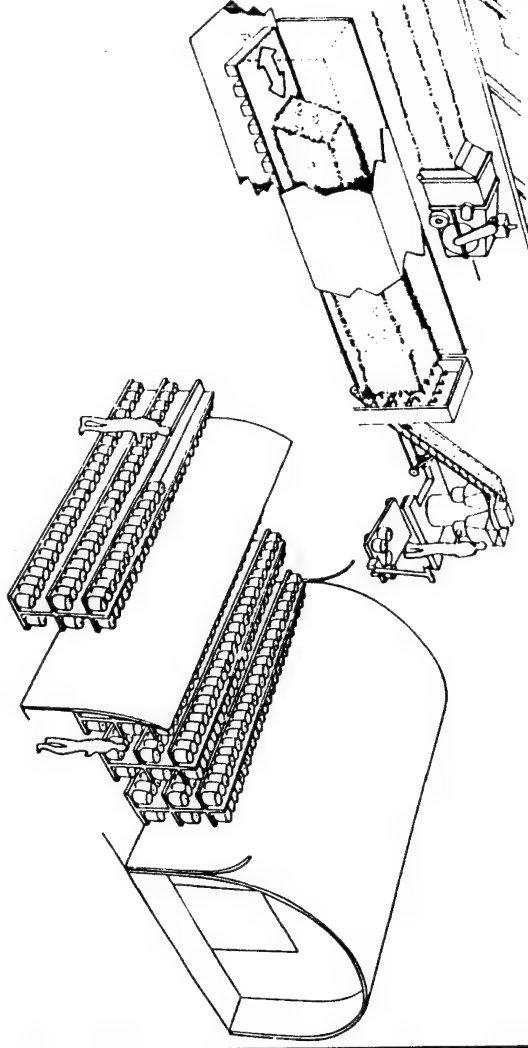
ويتم خلط التقاوى والكومبوست معاً، ثم يعبأ الكومبوست المخلوط بالتقاوى فى الأوعية المستخدمة فى الزراعة، سواء أكياس البولى إيثيلين، أم الصناديق الخشبية، أم الأرفف المعدنية.

وهناك طريقة أخرى لإضافة التقاوى، تتبع فى حالة الزراعة الآلية على الأرفف المتحركة؛ حيث يتم ذلك باستعمال ماكينة متحركة بعجلات على حواف الأرفف. وللماكينة زوائد معدنية تشبه الأصابع، تنبش سطح الكومبوست، وتضيف التقاوى داخله فى الوقت نفسه.

وتجب مراعاة الاحتفاظ بدرجة حرارة الكومبوست عند حوالى ٢٤°م، ورطوبة حوالى ٧٠٪، بينما يجب أن تكون رطوبة الهواء داخل حجرة النمو عاليةً قدر الإمكان، تجنباً لجفاف سطح الكومبوست. وفى هذه المرحلة تنمو هيفات فطر عيش الغراب منتشرةً خلال الكومبوست على شكل خيوط بيضاء اللون. وعادةً ما تلزم فترة تتراوح بين ١٤ يوماً و ٢١ يوماً لإتمام نمو هيفات الفطر فى الكومبوست.



شكل (٢٨) : رسم تخطيطي لمراحل زراعة عيش الغراب العادي في أرفق معدنية متحركة محمولة على حوامل (خضعة أرفق لكل حامل). ويشمل الرسم جميع مراحل زراعة عيش الغراب، بداية من تجهيز الكومبوست، ومروره على سير متحرك، وإضافة التكاثر آلياً، وانتهاءً بالتنظيف.



شكل (٩٩) : رسم تفصيلي لمراحل زراعة عيش الغراب العادي في أكياس بولي إيثيلين. ويشمل
الرسم جميع مراحل الزراعة بداية من تجهيز الكومبوست، ثم مروره على ماكينة خلطه مع التلوث،
ويقف عامل لمدة أكياس البولي إيثيلين بالكومبوست المخلوط بالتلوث ، ثم نقل الأكياس إلى حجرات
النمو على أرض.

ج- إضافة طبقة التغطية :

بعد تمام المرحلة السابقة، تتم تغطية الكومبوست بطبقة تتكون من خليط من البيت موس والتربة والحجر الجيري؛ وذلك بسمك بوصة واحدة. ويجب تعقيم مادة التغطية قبل استعمالها للتخلص من الميكروبات والآفات الضارة التي قد تلوثها.

وتعمل طبقة التغطية على توفير ظروف مناسبة لنمو هيفات فطر عيش الغراب بطريقة متجمعة، مكونة خيوطاً سميكاً بيضاء اللون تعرف باسم الأشكال الجذرية rhizomorphs. وينتج عن تجمع هذه الخيوط السمكية تكوين تركيبات فطرية تشبه رءوس الدبابيس، عبارة عن ثمرات عيش الغراب primordia.

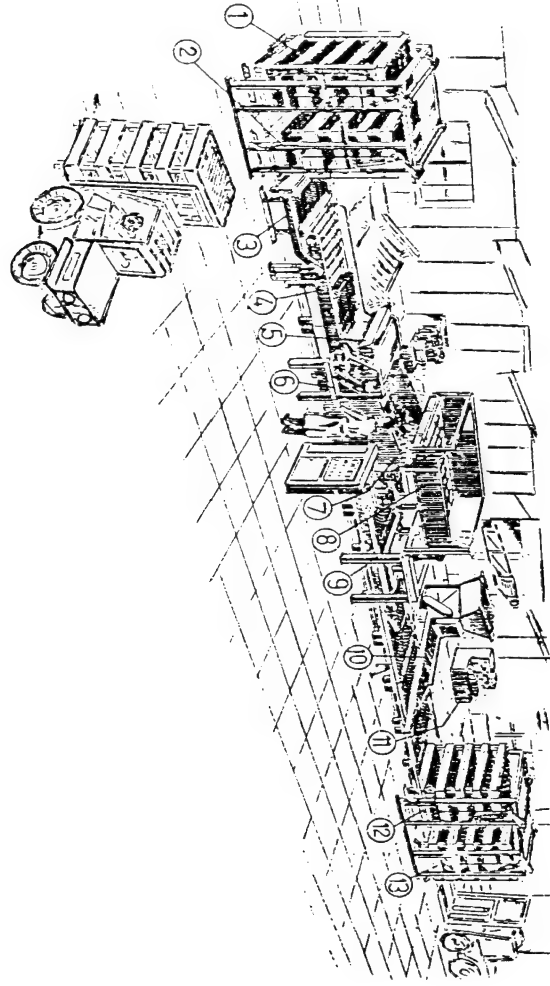
ولا تتكون التركيبات الفطرية السابقة إلا في طبقة التغطية؛ ومن ثم فإن عدم إضافة طبقة التغطية إلى الكومبوست - الذي تنمو فيه هيفات فطر عيش الغراب - يؤدي إلى عدم تكوين ثمار، وهذا يوضح أهمية طبقة التغطية بالنسبة للإنتاج.

د- تكوين الثمار وجمع المحصول:

تظهر ثمرات عيش الغراب على طبقة التغطية بعد حوالي أسبوعين من التغطية، ثم تستكمل هذه الثمرات نموها حتى تصل إلى الطور الزراري، وهو طور الثمار المقفولة؛ حيث يتم جمعها في هذه المرحلة قبل تفتحها؛ وذلك بعد ١٨-٢١ يوماً بعد التغطية.

ويراعى خلال مرحلة إنتاج الثمار خفض نسبة ثاني أكسيد الكربون داخل حجرات النمو؛ بحيث يكون أقل من ٠,٠٨٪ (نسبته في الهواء الجوى ٠,٠٣٪). ويتم التحكم في نسبة الأكسوجين / ثاني أكسيد الكربون في هواء حجرات النمو؛ وذلك عن طريق دفع مزيد من الهواء النقي؛ مما يعمل على خفض تركيز ثاني أكسيد الكربون ورفع نسبة الأكسوجين.

وتجنب مراعاة تجنب خفض الرطوبة الجوية داخل حجرات النمو، والذي ينتج - عادةً - عند دفع هواءٍ نقيٍّ جافٍ من خارج المزرعة بغرض التهوية؛ لذلك يجب زيادة الرطوبة الجوية بعد التهوية.

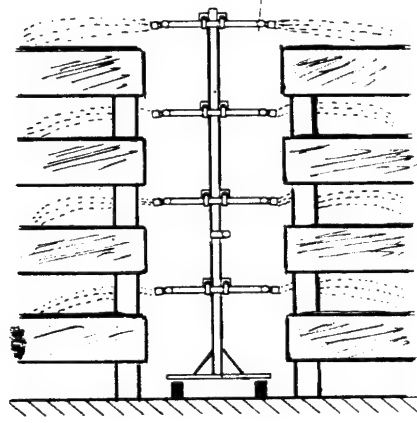


شكل (١٠٠) : خط آلي متكامل لزراعة عيش الغراب العادي (الماعى).

شكل (١٠٠) :

- ١- ماكينة تفريغ الصناديق الخشبية من الكومبوست الذي سبقت زراعته.
- ٢- الكومبوست الذي سبقت زراعته .
- ٣- ماكينة قلب الكومبوست الذي سبقت زراعته، (تجميعه - بسترته - تعبثته في أجولة؛ حيث يستعمل كسماد عضوي للحدائق ونباتات الزينة).
- ٤- سير متحرك ينقل صناديق الزراعة الفارغة.
- ٥- ماكينة إضافة التكاوي.
- ٦- خزان خلط الكومبوست (الذي سبق تجهيزه وسبقت بسترته) بالتكاوي.
- ٧- ماكينة تسوية سطح الكومبوست في الصندوق الخشبي.
- ٨- ماكينة نقل الصناديق الخشبية المحتوية على الكومبوست المنزوع بالتكاوي.
- ٩- ماكينة ضغط هيدروليكية.
- ١٠- ماكينة إضافة طبقة التغطية.
- ١١- ماكينة هيدروليكية لسحب الصناديق الخشبية بعد تمام زراعتها وتغطيتها.
- ١٢- حامل معدني لرفع الصناديق الخشبية.
- ١٣- نقل الحوامل المعدنية المحتوية على صناديق الزراعة الخشبية إلى حجرات النمو.

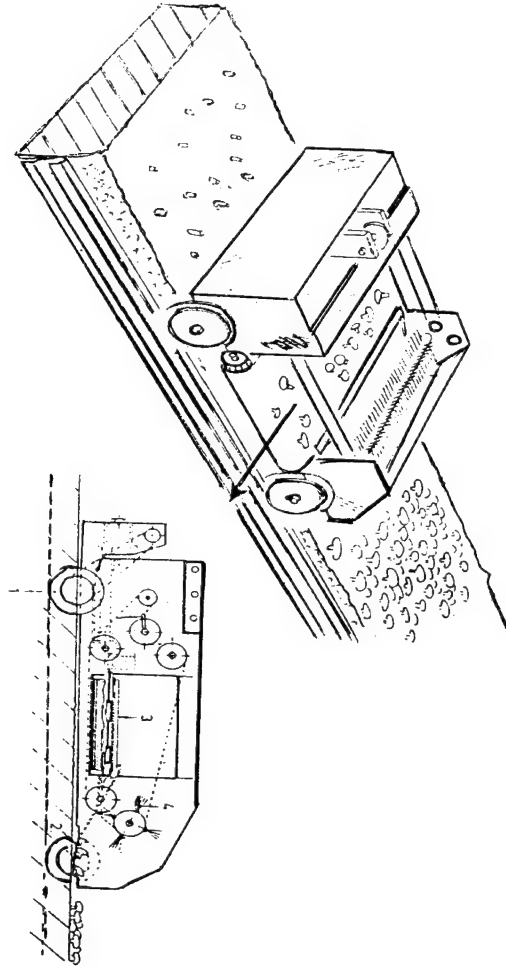
أما رى الكومبوست، فإنه يتبع - عادة - طريقة إضافة الماء على صورة رزاز من قطيرات الماء الدقيقة؛ باستعمال وحدات رى بالرش مركبة على حامل متحرك؛ بحيث يتم رى صناديق الزراعة المتراكبة بعضها فوق بعض في نفس الوقت؛ توفيراً للمجهود، ولتوزيع مياه الرى بطريقة متجانسة (شكل ١٠١).



شكل (١٠١) : طريقة رى الكومبوست باستعمال رشاشات الماء المتراكبة

ولكن يجب الاحتراس عند رش الماء فى حجرات النمو وعلى الكومبوست الذى تنمو عليه ثمار عيش الغراب؛ بحيث لا تبتل الثمار؛ مما يجعلها قابلة للعدوى بميكروبات العفن.

ويتم جمع محصول ثمار عيش الغراب يدوياً فى المزارع المتوسطة والصغيرة الحجم، بينما يجمع آلياً فى المزارع الكبيرة. وتتركب آلة قطف الثمار (شكل ١٠٢) من عربة صغيرة تسير بعجل على حافتي الرف المعدني، وهى ذات سلاح حاد فى مقدمتها، يقوم بقطع الثمار عند أعناقها، فوق سطح طبقة التغطية مباشرة.



شكل (١٠٦) : رسم تخطيطي ووضع تركيب وطريقة عمل آلة هصاد ثمار عيش الغراب العادي.

ويتم قطف ثمار عيش الغراب على عدة مراحل، يطلق على كل مرحلة (قطفة flush) . ويبلغ إجمالي عدد القطفات حوالي ست قطفات، بين كل قطفة والأخرى حوالي ٧-١٠ أيام، ويتوقف ذلك على مرحلة نضج الثمار المرغوبة. ويستمر إنتاج محصول عيش الغراب حوالي ٣٥ - ٤٢ يوماً، وقد يصل إلى ٦٠ يوماً.

ويتوزع محصول ثمار عيش الغراب خلال مراحل القطفات السابقة بطريقة غير منتظمة؛ حيث تعطى القطفة الأولى حوالي ٣٥٪ من إجمالي محصول الثمار، والقطفات التالية حوالي ٢٠٪، ١٥٪، ١٢٪، ١٠٪، ٨٪ من إجمالي المحصول على الترتيب؛ وعلى ذلك فإن إجمالي محصول الثلاث قطفات الأولى يصل إلى حوالي ٧٠٪ من المحصول الكلي.

وبعد الانتهاء من جني الثمار تنتهي الدورة، وتتم بستره حجرة النمو بما فيها من كومبوست عن طريق دفع بخار الماء الساخن؛ حتى ترتفع درجة الحرارة إلى ٢٦°م؛ وذلك لمدة ٣-٥ ساعات. والغرض من هذه العملية هو القضاء على الميكروبات والآفات الضارة التي قد تكون موجودة في الكومبوست بعد انتهاء جني المحصول.

ويتراوح إنتاج المتر المربع من مسطح الإنتاج للكومبوست بين ١٦ كيلو جرام و٢٠ كيلو جرام من ثمار عيش الغراب. وقد يزداد المحصول عن ذلك مع الخدمة الجيدة؛ حيث يصل إنتاج بعض المزارع النموذجية في هولندا إلى نحو ٣٠ كيلو جرام لكل متر مربع.

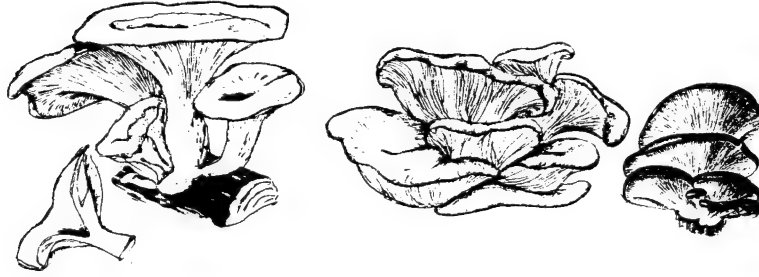
ويستخدم الكومبوست الناتج من زراعة عيش الغراب العادى بعد بسترته في زراعة الشتلات ونباتات الزينة وفي حدائق الفاكهة؛ مثل الموز وغير ذلك؛ حيث يوفر للجذور جميع الاحتياجات اللازمة للنمو؛ مثل العناصر الغذائية، والاحتفاظ بالرطوبة حول الجذور، بالإضافة إلى توفير بعض المواد المشجعة للنمو.

٦- زراعة عيش الغراب المحارى:

انتشرت زراعة عيش الغراب المحارى خلال السنوات الأخيرة فى مصر، وبعض الدول العربية كأحد المشروعات الصغيرة للشباب، كما أقبل جمهور المستهلكين على تناول هذا النوع من عيش الغراب؛ نظراً لطعمه الفاخر وقيمته الغذائية العالية، وسعره المعتدل.

وتتكون ثمار عيش الغراب المحارى من قبعات متراكبة بعضها فوق بعض،، لونها أبيض عادة، قد تميل إلى اللون البنى الفاتح أو الرمادى أو البنفسجى؛ حيث يتراوح قطر القبة الناضجة بين ٥ سم و ٣٥ سم.

وتحمل قبعات هذا الفطر جانبياً على سيقان بيضاء قصيرة ملساء، بينما تنمو خياشيم الفطر على الجزء السفلى من القبة. ولحم الثمرة أبيض اللون متماسك، ذو رائحة وطعم مقبولين، والجراثيم بيضاء اللون.



شكل (١٠٣) : ثمار فطر عيش الغراب المحارى

ويزرع هذا الفطر على عديد من المخلفات الزراعية الخام - مثل قش النجيليات - بعد بسترتها. ويمكن غسل هذه المواد العضوية قبل استخدامها في الزراعة إذا دعت الضرورة إلى ذلك؛ مثل تلوثها بحبيبات الطين التي تصبح مصدراً للتلوث بميكروبات وآفات التربة الضارة.

أ- المخلفات العضوية المستخدمة في الزراعة:

تستخدم عديد من المخلفات العضوية في زراعة عيش الغراب المحارى بنجاح؛ مثال ذلك مخلفات الحقل؛ كقش المحاصيل النجيلية، وحطب القطن، والذرة، وقوالح الذرة، وعُرش بعض محاصيل الخضار، وكذلك مخلفات مصانع الأغذية؛ مثل مصاصة القصب (البجاس)، ومخلفات عصر الفواكه، وصناعة المربى، وقشور الفاصوليا، واللوبياء، وغيرها.

وبالإضافة إلى ما سبق، يمكن استخدام نواتج تقليم بساتين الفاكهة، والأغصان والفروع الميتة وأشجار الموز وأوراقها في زراعة عيش الغراب المحارى، كما تستعمل بعض المواد العضوية الناتجة من تصنيع الأخشاب؛ مثل نشارة الخشب، وبقايا الأخشاب، ولحاء الأشجار لنفس الغرض.

ويجب أن تكون المادة العضوية المختارة لزراعة عيش الغراب المحارى عليها مقطعة بطريقة مناسبة، وخالية من المواد السامة والعناصر الثقيلة والمبيدات، وأيضاً الميكروبات الضارة والآفات الزراعية، وغيرها من مواد تضر بنمو الفطر.

ب- اختيار مكان الزراعة:

يجب أن يكون المكان المراد زراعة عيش الغراب المحارى فيه مناسباً لذلك الغرض؛ فمن الواجب أن يكون محكم الإغلاق، لاجتد الحشرات والقوارض إليه سبيلاً، ذا أرضية صلبة يسهل تطهيرها، ولا ترتفع درجة الحرارة به عن ٢٣° في الأوقات الحارة.

ويمكن استكمال احتياجات زراعة عيش الغراب بالمكان المختار بتركيب وحدة ري بالضباب، أو تركيب سلك بالنوافذ لعدم دخول الحشرات، أو إنارته إذا كان مظلماً ... وهكذا، كما يمكن استعمال أجهزة بسيطة لقياس درجة حرارة الهواء ورطوبته؛ ليكون ذلك دليلاً للمزارع خلال فترة رعايته للمزرعة.

كما يجب الاهتمام بتهوية المزرعة تهوية جيدة؛ نظراً لاحتياج نموات عيش الغراب إلى الأكسوجين خلال فترة الإثمار. وقد يكفي فتح النوافذ لتهوية المكان، ولكن في حالات أخرى يجب تركيب شفاطٍ للتهوية؛ وخاصة إذا كانت حركة الهواء محدودة.

وتراعى تهوية المزرعة قبل ترطيبها؛ حتى لا يفقد الهواء رطوبته إذا تمت التهوية بعد الترطيب. وتؤدي قلة التهوية إلى انخفاض نسبة الأكسوجين في هواء المزرعة؛ مما يؤدي إلى تثبيط تكوين الثمار وتفتحها، وعدم استكمالها لنموها الطبيعي.

كما تؤثر الإضاءة على تكوين الثمار؛ حيث تحتاج إلى نحو أربع ساعات ضوءٍ يوميّاً، بصرف النظر عن مصدر ذلك الضوء إن كان طبيعياً أم صناعياً؛ فإذا تعرضت الثمار لفترة إضاءة أقل من أربع ساعاتٍ نمت نمواً غير طبيعياً؛ حيث يختزل حجم القبعات، وتطول السيقان، بينما تؤدي زيادة فترة الإضاءة إلى تلون الثمار بألوانٍ باهتة تبعاً لنوع الفطر المنزوع.

ج- بسترة المادة العضوية:

الغرض من هذه العملية قتل معظم الميكروبات والآفات الضارة التي قد تكون موجودة في المادة العضوية المراد استخدامها في زراعة عيش الغراب المحارى. وهناك وسيلتان تستخدمان في ذلك، الأولى دفع تيارٍ من بخار الماء الساخن داخل حيزٍ مغلقٍ مخزنة به المادة العضوية، والثاني غليان المادة العضوية في الماء المغلى مباشرة.

ويتبع - عادةً - وضع المادة العضوية المراد بسترتها داخل أجولة من القماش

السميك عند بسترته؛ وذلك لتسهيل نقلها وحمايتها من التلوث بعد ذلك. وبعد الانتهاء من عملية البسترة، تترك المادة العضوية لمدة ليلة حتى تبرد، وتخلص من الماء الزائد.

د - الأوعية المستخدمة في الزراعة:

تستخدم لذلك الغرض أوعية مصنوعة من البلاستيك؛ مثال ذلك السلال (الأسيتة) أو الأسطوانات، أو الشباك، أو الأكياس. وتختلف كمية المادة العضوية المستخدمة في كل وعاء تبعاً لسعته؛ فالسلة الواحدة تستوعب ٢ كيلو جرام مادة عضوية مبسترة تقريباً، بينما يلزم لزراعة الأسطوانة نحو ٢٠-٢٤ كيلو جرام مادة عضوية، ويفضل زراعة ١٠ - ١٥ كيلو جرام من هذه المادة في كل كيس.

هـ- إضافة التقاوي :

تستخدم التقاوي من مصدر موثوق به لزراعة عيش الغراب؛ مثل وحدة أبحاث وإنتاج عيش الغراب بكلية الزراعة - جامعة عين شمس بشبرا الخيمة، وغيرها من الوحدات المناظرة بالجامعات ومراكز البحوث الأخرى. وتستعمل التقاوي بمعدل ٤-٥٪ من وزن المادة العضوية المبسترة.

ويمكن إضافة التقاوي على صورة طبقات متبادلة مع المادة العضوية، أو قد تخلط بالمادة العضوية المراد زراعتها مع مراعاة النسبة التي سبقت الإشارة إليها. ويجب إجراء عملية الزراعة وإضافة التقاوي في مكان نظيف بعيداً عن مصادر التلوث، ويمكن تطهيره بأحد محاليل التطهير (كالفينول أو السافلون) قبل العمل.

وبعد تمام زراعة المادة العضوية بالتقاوي، تغطي الأوعية المستخدمة في الزراعة بأكياس بلاستيك شفافة؛ لتسهيل مراقبة نمو الفطر، والتعرف على وجود تلوث في وقت مبكر.

و - فترة التحضين :

هي الفترة المحصورة بين إضافة التقاوي إلى المادة العضوية المستخدمة في زراعة عيش الغراب، وتماام نمو الفطر عليها. وعندما تنمو هيفات الفطر البيضاء علي هذه المادة العضوية تماماً، ترفع الأغشية البلاستيك، وتبدأ عمليات الخدمة المختلفة مثل التهوية، والرى، وجمع الثمار الناضجة.

وتتراوح فترة التحضين بين أسبوع واحد وأسبوعين؛ تبعاً لنوع الفطر المستخدم في الزراعة ودرجة الحرارة السائدة في فصول السنة المختلفة.

ز - تكوين الثمار :

يبدأ تكوين ثمار عيش الغراب المحارى بعد نحو أسبوع من إزالة الغطاء البلاستيك وانتهاء فترة التحضين. وفي هذه الفترة يجب الاهتمام بتوفير العوامل اللازمة للإثمار؛ مثل ارتفاع الرطوبة النسبية، وتجنب الحرارة العالية، وفترة الإضاءة اللازمة لتكوين الثمار.

ويبدأ تكوين الثمار علي هيئة نمواتٍ صغيرة الحجم، كروية الشكل، مبعثرة علي سطح المادة العضوية، أو تكون متجمعة بعضها مع بعض في بعض الأحيان. وتتميز هذه النموات الصغيرة بانها ذات رأس منتفخ قليلاً، ولونها داكن.

وتتفرع هذه الثميرت الصغير أثناء نموها لتكوين ثمار ذات قبعات متراكبة فوق بعضها؛ بحيث تكون القبعات الأسبق في التكوين أكبر حجماً. وأحياناً تشاهد ثمار مفردة ذات قبعاتٍ تحمل مركزياً أو جانبياً علي سيقانٍ بيضاء قصيرة مصمتة.

ويتم قطف ثمار عيش الغراب المحارى عند نضجها، ولا توجد علاقة ارتباط بين حجم الثمرة ودرجة نضجها. وتعرف الثمار الناضجة بتوقفها عن النمو وتلون حوافها باللون البني الفاتح، والتفاف حافة القبة لأسفل.

وتنزع الثمار الناضجة من علي المادة العضوية المزروعة فيها، ثم تُنظف بعد ذلك وتعبأ. ويجب أن تكون ثمار عيش الغراب جيدة التكوين، وطازجة عند عرضها للبيع،

كما يراعى أن تكون الساق قصيرة، والقبعات خالية من البقع أو التشوهات. وتحفظ الثمار - عادةً - في الثلاجة لمدة أسبوع؛ حيث تكون صالحة للاستهلاك خلال هذه الفترة.

٧- زراعة أنواع أخرى من عيش الغراب :

هناك عديد من أنواع عيش الغراب الأخرى التي يمكن زراعتها بسهولة؛ مثل فطر عيش غراب الشيتاكي Shii- Taki، وعيش غراب القش straw mushroom، وعيش الغراب ذي القبعة البنية brown cap mushroom، وعيش غراب الشتاء winter mushroom، وغيرها كثير. ويمكن الرجوع إلى موسوعة عيش الغراب العلمية - الجزء الثاني - دكتور محمد علي أحمد - الدار العربية للنشر والتوزيع (١٩٩٥)، وكذلك (عيش الغراب وعالمه الساحر - دكتور محمد علي أحمد - دار المعارف - ١٩٩٨)؛ للتعرف على طرق زراعة عديد من أنواع فطريات عيش الغراب.

٨- مشاكل إنتاج عيش الغراب :

هناك مصادر عديدة لتلوث مزارع عيش الغراب بالميكروبات والآفات الضارة؛ مثل: الفطريات، والبكتيريا، والحشرات، والأكاروس، والنيماطودا، والحلم. ويلاحظ أن ثمار عيش الغراب لا تتحمل العدوي؛ حيث سرعان ما تنهار وتحلل أنسجتها خلال ساعاتٍ من الإصابة.

وحيث إنه من غير المرغوب فيه استخدام مواد كيميائية في رش المزرعة؛ لذا فإن الإجراءات المتبعة في مثل هذه الحالات تعتمد على وقاية المزرعة وحمايتها من التلوث بمثل هذه الميكروبات والآفات الضارة.

وتعتبر المواد العضوية المستخدمة في زراعة عيش الغراب هي أهم مصادر التلوث؛ ويرجع ذلك إلى أنها بيئة مناسبة لنمو مثل هذه الأحياء الدقيقة، كما أن حبيبات

التربة تتعلق بها؛ مما يسبب زيادة مصادر التلوث. وهذا يؤكد أهمية بستر المادة العضوية؛ كوسيلة فعالة للتخلص من مصدر العدوي.

وتلعب الميكروبات المنقولة بالهواء دوراً هاماً في تلوث المزرعة، وخاصةً بالفطريات التي تكوّن جراثيم جافةً مسحوقيةً؛ مثل الفطريات التابعة للأجناس *Trichoderma*، و *Aspergillus* و *Penicillium*، وكذلك بعض أنواع البكتيريا التابعة للجنس *Pseudomonas*، التي تسبب مشاكل لاحصر لها عند ارتفاع رطوبة المزرعة إلى أكثر من الحد المرغوب فيه.

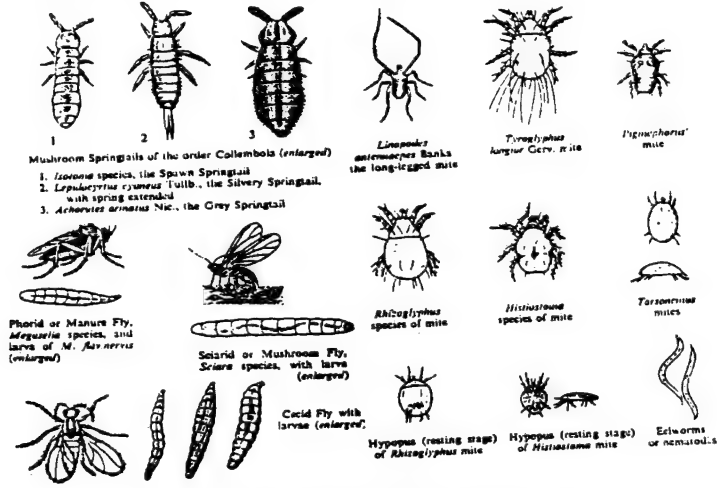
كما تظهر حشرات الدباب والهاموش علي المادة العضوية؛ حيث تلتهم يرقاتها هيفات الفطر، وكذلك سيقان الثمار؛ مما يؤدي إلى عفنها. ويعتبر الحلم من الآفات الخطيرة التي تهاجم الثمار، ومنه أنواع مختلفة؛ مثل: حلم القش، وحلم عيش الغراب الأبيض، وحلم الفلفل الأحمر، والحلم ذو الأرجل الطويلة.

وقد تشاهد ثمار عيش غراب مصابةً بالنيماطودا، وخاصةً عندما تكون المادة العضوية مبللة وسيئة البسترة. ويمكن التعرف علي وجود النيماطودا عن طريق اختفاء النموات البيضاء لهيفات الفطر؛ نظراً لتغذية هذه النيماطودا عليها.

٩ - إنتاج علف غير تقليدي :

يعتبر نمو هيفات فطر عيش الغراب المحاري علي المخلفات العضوية التي سبقت بسترها نوعاً من التحول الحيوي لهذه المخلفات المحتوية علي مواد عضوية معقدة؛ كالسيليلوز، واللجنين؛ حيث تتحلل مثل هذه المواد إلى مواد أقل تعقيداً.

وحيث إن مثل هذه المخلفات العضوية تتراكم سنةً بعد أخرى في مصر وغيرها من دول العالم الثالث ملوثةً للبيئة، ومسببةً مشاكل لا حصر لها، فإن إعادة تدوير هذه المخلفات يعمل علي الاستفادة منها وتجنب الأضرار الناتجة عن تراكمها دون استخدام.



شكل (١٠٤) : بعض الآفات الضارة بمزرعة عيش الغراب

وتتميز المخلفات العضوية الحقلية باحتوائها علي تركيز عالٍ من اللجنين و/ أو السيليلوز - مثل حطب القطن - وهي غير مناسبة لتغذية الحيوانات نظراً لانخفاض قدرة هذه الحيوانات علي هضم مثل هذه المخلفات، بالإضافة إلي انخفاض محتواها الغذائي.

ويعتبر استخدام المخلفات العضوية في زراعة عيش الغراب أحد الجوانب الإيجابية لإعادة تدوير المخلفات، وحماية البيئة من التلوث، وإنتاج محصول من ثمار عيش الغراب ذات قيمة غذائية عالية؛ كغذاء بروتيني لدول العالم الثالث التي تعاني نقص الأغذية البروتينية الحيوانية، بالإضافة إلي تشغيل الشباب في مشروع استثماري صغير، وأيضاً الاستفادة من المخلفات المحولة حيويّاً، بفعل نمو فطر عيش الغراب إلي علفٍ للحيوانات.

ولقد أظهرت نتائج عديد من التجارب - التي أجريت علي التحول الحيوي لهذه المخلفات العضوية - انخفاض نسبة الألياف الخام، وزيادة محتواها من البروتين والدهون الخام، وكذلك العناصر المعدنية والفيتامينات؛ وهذا يجعل لهذه المخلفات الناتجة من زراعة عيش الغراب أهمية خاصة؛ كعلفٍ غير تقليديٍ للحيوانات.

١٠. الكمأة.. كنز الصحراء:

تُعرف الكمأة *Truffles* بأسماء متعددة؛ مثل: الترفاس، والفجع، والفميجية، وكلها مرادفات لأحد الفطريات الأسكية الكبيرة الحجم، والتي تنمو تحت سطح الأرض بجوار جذور بعض أعشاب الصحراء، مكونةً نوعاً من أنواع تبادل المنفعة يطلق عليه اسم «الميكوريزا الخارجية *ectomycorrhiza*».

وفي بلادنا العربية ذات البيئة الجافة، تتساقط الأمطار - عادةً - مصحوبةً ببرق ورعد، وذلك خلال فترة قصيرة من فصل الشتاء أو الربيع. ويعمل البرق علي تكوين أكاسيد النيتروجين في الهواء الجوى، التي تذوب مع قطرات مياه المطر، وتسقط على سطح الأرض محملةً بالمواد النيتروجينية اللازمة لنمو الكمأة في التربة الفقيرة لرمال الصحراء؛ ولذا يطلق على الكمأة اسم «بنت الرعد».

وتتكون الأجسام الثمرية لفطر الكمأة نتيجة نمو هيفاته على جذور العائل النباتي المناسب في صورة غلالة هيفية. وفي هذه الأثناء، يحصل الفطر على المواد الكربوهيدراتية من النبات، بينما يمدّه هو بالمركبات النيتروجينية، ويسر له الحصول على الماء الذى يذوب فيه عديد من أملاح التربة كالفوسفات.

وبعد فترة من نمو هيفات الفطر حول الجذور، تتكون ثمريرات صغيرة من الكمأة، تكبر تدريجياً مكونةً ثماراً أسكية تشبه درنات البطاطس الصغيرة في شكلها، إلا أنها ذات سطح محبب. وقد تكبر الثمار في الحجم بعد سقوط الأمطار؛ حيث تصل في وزنها إلى نحو كيلو جرام.

وعندما تكبر ثمار الكمأة تحت سطح الأرض، تتشقق الطبقة السطحية من الرمال؛ مما يسهل التعرف على مكان وجودها. كما يمكن التعرف على وجود الثمار ذات الرائحة القوية عن طريق تدريب كلابٍ خاصة، تنبش في الأرض باحثاً وراء هذه الرائحة حتى تعثر عليها.

وهناك أنواع مختلفة من الكمأة؛ منها الفاتحة اللون أو الداكنة، ولكنها كلها مأكولة، ولا توجد بين الكمأة أنواع سامة. وتتميز ثمار الكمأة بقيمتها الغذائية العالية وطعمها الفاخر؛ وذلك لاحتوائها على نسبة من البروتين الغنى بالأحماض الأمينية الأساسية، والتي لا يستطيع جسم الإنسان تكوينها بنفسه.

ويشبه طعم الكمأة لحم الضأن المشوى؛ وهى سهلة الهضم، غنية بالفيتامينات، وخاصة فيتامين C، كما أنها غنية بكثير من الأملاح المعدنية. ولقد أثبت البحث العلمى أن بروتين الكمأة سهل الهضم، يستفيد منه الجسم مباشرة. ويستخدم مسحوق الكمأة كتوابل ذات طعم ونكهة فاخرة، بينما تستعمل الأنواع ذات الرائحة العطرية النفاذة فى صناعة بعض أنواع العطور الفاخرة.

سادساً: إنتاج مركبات النكهة ومكسبات الطعم والرائحة :

من المعروف أن بعض أنواع الفطريات تعطى روائح عطرية مقبولة عند نموها على البيئات الغذائية في المعمل؛ فعلى سبيل المثال تنتج الأنواع التابعة للجنس *Trichoderma* رائحة تشبه جوز الهند، وثمار فطر عيش الغراب من النوع *Lepista irina* ذات رائحة تشبه زيت زهرة السوسن؛ نظراً لاحتوائها على مركبات عطرية أطلق عليها *Lepistorones*.

وفي الآونة الأخيرة، تم إنتاج عديد من مركبات النكهة المستخدمة في التصنيع الغذائي من الكائنات الحية الدقيقة خاصة البكتيريا. وتتميز هذه المركبات بجودتها، ورخص ثمنها، وسهولة إنتاجها؛ بالمقارنة بالمستخلصات النباتية.

ومن مركبات النكهة المنتجة بواسطة الفطريات:

١ - إنتاج النيوكليوتيدات 5' nucleotides :

تضاف النيوكليوتيدات إلى الأغذية كمواد محسنة للنكهة *flavor enhancer* حيث يرجع تأثيرها إلى الاسترات الفوسفاتية لهذه المركبات، وكذلك إلى مجموعة الهيدروكسيل الموجودة في الوضع السادس.

ويتم تحضير هذه المركبات باستخلاص الحمض النووي الريبوزي RNA من خلايا الخميرة، ثم عمل معلق منه في محلول مائي وتحضينه مع إنزيم *5'phospho dies-trase* الناتج من الفطر *Penicillium citrinum* على درجة حرارة ٧٠°؛ حيث يتم تحلل الحمض النووي الريبوزي إلى مركبات النكهة؛ التي أهمها *5'-inosinate* و *5'-guanylate*.

٢ - إنتاج التربينات terpenes :

تعتبر التربينات المكون الأساسي المسئول عن رائحة كثير من الزيوت العطرية؛ وهى عبارة عن هيدروكربونات، تتكون من وحدات ايزوبرين (2-methy α 1,3- bu- tadiene)؛ سواء فى حلقة مفتوحة، أم مقفولة، أم عطرية مشبعة، أم غير مشبعة.

وتتكون معظم هذه المركبات بواسطة النباتات، إلا أن هناك عدداً من الكائنات الحية الدقيقة تقوم بإنتاجها. ويوضح جدول (٢٦) بعض الأمثلة للفطريات المنتجة للتربينات، وأنواع هذه التربينات المنتجة بواسطتها.

جدول (٢٦) إنتاج التربينات بواسطة الفطريات (Trivedi, 1986)

الرائحة	التربينات المنتجة	الفطر
رائحة الفاكهة	Geraniol, d-limonene	<i>Trametes odorata</i>
رائحة الفاكهة	α - pinene	<i>Phellinus sp</i>
رائحة الفاكهة والأزهار	Citronellol, linalool, geraniol	<i>Kluyveromyces lactis</i>
رائحة الموز والخوخ	Citronellol, linalool, geraniol	<i>Ceratolysis moniliformis</i>
رائحة الفاكهة	Nerol, terpineol	<i>Ceratolysis spp.</i>
رائحة الفاكهة والأزهار	Citronellol, linalool	<i>Ascoidea hylecocti</i>
رائحة الفاكهة	Citronellol, citron ellyl acetate	<i>Ceratocystis coerulescens</i>
رائحة الفاكهة	Citronellol, linalool, geraniol	<i>C. fimbriata</i>
رائحة الموز	Geraniol, citronellol, nerol	<i>C.variospora</i>
رائحة الفاكهة	Linalool, geranylacetate	<i>C.virescens</i>
رائحة الفاكهة	Linalool, sesquiterpenes	<i>Lentinus lepideus</i>
رائحة الصابون	Thujopsene, nerolidol	<i>Penicillium decumbens</i>

ومن أهم الفطريات المنتجة للتربينات بعض الأنواع التابعة للجنس *Ceratocystis*؛ ومن أهمها النوع *C.variospora* الذى ينتج كحولات وحيدة التربين *monoterpene alcohols* بتركيز عدة جرامات لكل لتر بيئة على المستوى نصف التجارى.

ومن الفطريات الأخرى المنتجة للتربينات فطر الخميرة *Kluyveromyces lactis* الذى ينمو على اللاكتوز الموجود بشرش اللبن. ولقد تم عزل سلالات من هذا النوع من فطر الخميرة تنتج ٥٠ ميكروجرام لكل لتر من كحول لينالول *linalool* وكحول سيترونيلون *citronellon*.

ولقد تمت زيادة انتاجية هذه السلالات من خميرة *K.lactis* عن طريق الهندسة الوراثية، ثم استخدمت السلالات المهندسة وراثيا فى إجراء التخمر تحت ظروف مثلى. ويمكن الحصول على الكتلة الحيوية لخلايا الخميرة بعد الانتهاء من إنتاج التربينات؛ حيث تستخدم هذه الخلايا فى الصناعات الغذائية، أو فى صناعة علائق الحيوان.

وتعتبر هذه الطريقة من الطرق غير الملوثة للبيئة؛ نظراً لخفض معدل التلوث الذى تسببه مصانع الألبان، وذلك بالاستفادة من الشرش المتخلف عن صناعة الجبن فى إنتاج منتجات مفيدة اقتصادياً.

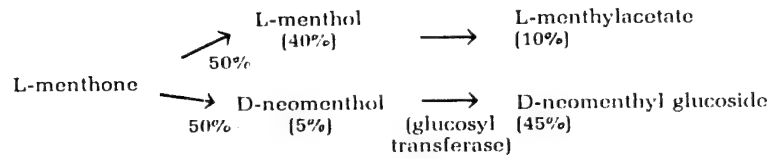
٣ - إنتاج المنتول L-menthol :

تستخدم عديد من الفطريات فى إنتاج المنتول ومشتقاته الضوئية -optical isomers؛ مثال ذلك: الفطر *Geotrichum candidum*، وبعض الأنواع التابعة للجنس *Tri-choderma*، وللجنس *Schizophyllum*، الذى يتبعه بعض أنواع فطريات عيش الغراب ذات القبعات المروحية الشكل.

وتتميز هذه المركبات العطرية بتنوع استخداماتها فى عديد من الصناعات؛ مثل صناعة مستحضرات التجميل والمواد المعطرة للحمامات، ومواد

التنظيف، وغير ذلك؛ حيث يستهلك من هذه المركبات العطرية ما يقدر بليونى دولار سنويا.

ويعتبر المنتول من المركبات العطرية الأساسية، ويبلغ الإنتاج العالمى منه أكثر من ٣٠٠ طن سنويا. ويتم إنتاج المنتول بصفة رئيسية من نبات النعناع *Mentha piperi*؛ حيث يكون هذا النبات مركب *L-menthone* خلال المرحلة المبكرة من الإزهار، ثم يتحول هذا المركب إلى *L-menthol* فى مرحلة الإزهار الكلى. ويتم اختزال المنثون *L-menthon* عن طريق إنزيمين مختلفين؛ كما هو موضح فى الشكل التالى:



شكل (١٠٥) : دورة تحول المنثون *L-menthone* إلى منتول *L-Menthol*

ويمكن استخدام الفطريات فى إنتاج المنتول؛ حيث تعتبر اليابان أكبر منتج لهذا المركب. ولقد قام مجموعة من الباحثين اليابانيين وهم (Omata et al 1981) بتحليل مركب *DL-menthol succinate* باستخدام فطر الخميرة *Rhodotorula minuta var. texensis* المسكنة على عمود من مادة *polyurethane*.

وفى الدراسة السابقة، تمت إذابة مركب *DL-menthol succinate* فى محلول هبتان مشبع بالماء كـمذيب، وإمراره على العمود المحمل بالخلايا المسكنة. وكانت نسبة التحويل ٧٢٪، ودرجة نقاوة مركب *L-menthol* الناتج ١٠٠٪ نقاوة ضوئية.

وقد رت فترة نصف عمر العمود الذى سُكّنت عليه خلايا الخميرة بنحو ٥٣-٦٣ يوماً ؛ وذلك فى حالة الاستخدام التجارى، وهى فترة مناسبة جداً، تتيح استعمال العمود لفترة طويلة بكفاءة عالية.

٤- إنتاج اللاكتونات Lactones :

تستخدم هذه المركبات بصفة أساسية فى صناعة مكسبات الرائحة ومركبات النكهة المختلفة؛ مثل مشابهات الفاكهة، ومشابهات جوز الهند، ومشابهات الزبدة، ومشابهات المكسرات. وتتميز هذه المنتجات الفطرية بانخفاض تكاليف إنتاجها، مع اعتبارها منتجاً طبيعياً.

ويرجع الفضل فى بداية إنتاج هذه المواد إلى مجموعة الباحثين: van der Muys، و Dejonge عام ١٩٦٢، وذلك بإنتاجهم مركب جاما دلتالاكتون؛ باستخدام فطر الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* فى معامل شركة Unilever بهولاندا. وتنتج هذه المركبات حديثاً باتباع تقنية الخلايا المسكنة.

٥- استخدام الفطريات فى تحسين نكهة الأغذية:

بالإضافة إلى استخدام بعض الفطريات فى إنتاج مركبات النكهة التى تستخدم كإضافات طبيعية للأغذية، فإنها تستخدم أيضاً فى تحسين نكهة بعض الأغذية، أو فى إزالة نكهات غير مرغوبة ناتجة عن وجود مركبات معينة فى بعض المواد الغذائية.

فعلى سبيل المثال، تحتوى بعض ثمار الموالح - مثل البرتقال، والجريب فروت - على بعض المركبات ذات الطعم المر؛ مثل الليمونين *limonin*، والنوميلين *nomillin*، والنارينجين *naringin*، وكلها عبارة عن مركبات ليمونيدات *limonids* أو فلافونيدات *flavonoids*.

وتختلف هذه المركبات عن مركب الليمونين *limonin* فى احتوائها على مجموعة كربونيل حرة على ذرة الكربون رقم ١٨، ومجموعة هيدروكسيل حرة على

ذرة الكربون رقم ١٧. وتتكون مثل هذه المركبات فور استخلاص العصير، وتسبب خسائر فادحة لمصانع إنتاج عصائر البرتقال والجريب فروت.

ولقد وجد أن بعض سلالات الفطر *Aspergillus niger* والفطر *Coniella diplo-diella* تفرز إنزيم naringinase؛ الذى يحول المركب naringin ذا الطعم المر فى الجريب فروت إلى مركب naringenin عديم المرارة.

وقد قام الباحثان (Masegawa & Maier (1985 بعمل تسكين للخلايا الفطرية (الهيفات) على عمود؛ بحيث يمر عليه العصير؛ فتتم إزالة المرارة منه على الفور. وعادةً ما يستخدم هذا العمود عدداً من المرات تصل إلى ١٥-٢٠ مرة قبل إعادة تجديده بخلايا الفطر.

سابعاً : إنتاج الصبغات :

يتجه العالم حديثاً إلى استخدام الصبغات الطبيعية *natural dyes* المستخرجة من النباتات والأحياء الدقيقة في عمليات تصنيع الأغذية وتعبئتها؛ مما يضمن سلامة هذه الأغذية صحياً.

ولكن عادةً ما تخضع مثل هذه الصبغات الطبيعية إلى دراسات عميقة لبيان مدى صلاحيتها للاستخدام الآدمي؛ نظراً لأن بعضها ضار بالصحة، وقد يكون ساماً؛ لذا فإن عدد الصبغات ذات الأصل الميكروبي المسموح باستعمالها في التصنيع الغذائي قليل نسبياً.

ومن أهم أمثلة هذه الصبغات، إنتاج الصبغة الحمراء من خميرة *Phaffia rho-* *dozyma*، ومن الفطر *Monoascus purpureus*، ومن تخمير عصير البنجر باستعمال فطر الخميرة *Candida utilis*؛ حيث يتم تركيز الصبغة، والتخلص من التريت، وبعض المركبات الأخرى غير المرغوبة.

وتعرف الصبغة الحمراء التي تنتجها خميرة *P. rhodozyma* باسم *astaxanthin* (3,3' - dihydroxy - β - β carotin - 4- 4' di-one). وينتشر هذه المركب في المملكة الحيوانية، ملوناً ريش النعام، وقشور الجمبرى، والمحاريات، وأسماك السلمون، وأسماك الزينة، ولكنه نادر الوجود في الأحياء الدقيقة.

ويفرز فطر الخميرة السابق هذه الصبغة الحمراء تحت ظروف التهوية الجيدة، وذلك عند نموه على بيئة غذائية تحتوي على السللوبيوز. وتنتج هذه الصبغة في طور النمو اللوغاريتمى، بينما ينخفض إنتاجه لها عند طور الثبات.

ومن ناحية أخرى يستخدم الفطر *Monoascus purpureus* في إنتاج نبيذ الأرز

الأحمر *red rice wine* منذ زمن طويل؛ وذلك باتباع تقنية تخمر المواد الصلبة. وتتميز الصبغة الناتجة من هذا الفطر بأنها خليط من اللون الأحمر والأصفر والبنفسجي، وهي تتكون من خليط من الكيتيدات المعقدة *polyketides* التي لا تذوب في الأحماض؛ حيث تتكون داخل الخلية الفطرية من خلال دورات التمثيل الغذائي الثانوية التي تشبه في مساراتها تخليق الأحماض الدهنية.

وعادةً ما يتم اتباع طريقة تخمر المواد الصلبة عند إنتاج هذه الصبغة؛ حيث تنتج كميات منها تفوق ما يمكن إنتاجه باتباع طريقة تخمر البيئة السائلة بنحو عشرة أضعاف. وما زالت الأبحاث العلمية جارية لتطوير إنتاجية الفطر المتنامي في البيئة السائلة من هذه الصبغة.

ولقد أظهرت بعض الدراسات - التي أجريت في هذا المجال - أهمية النسبة بين الجلوكوز وأملاح الأمونيوم في البيئة السائلة المستخدمة في إنماء الفطر *M. purpureus* وإنتاج الصبغة الحمراء، كما أن هناك محاولات لنقل الجينات المستولة عن إنتاج اللون في الفطر السابق إلى كائنات حية أخرى؛ باتباع تقنية الهندسة الوراثية.

وحالياً يتم إنتاج أرز متخمّر *fermented rice* باستخدام الفطر السابق بطريقة تخمر المواد الصلبة؛ مما ينتج عنه أرز ملون باللون الأحمر. ويستخدم هذا النوع من الأرز - بعد تجفيفه - كإضافة غذائية طبيعية في تصنيع بعض المواد الغذائية؛ مثل منتجات اللحوم؛ كاللانشون، والهمبورجر.

وأيضاً يستخدم فطر الخميرة *Candida utilis* في زيادة تركيز الصبغة الحمراء للبنجر؛ وذلك عند إنمائه على مستخلص البنجر؛ حيث ينمو هذا الفطر على هذا المستخلص عند رقم حموضة -5، وعلى حرارة ٣٠°م؛ مستهلكاً السكر والبروتينات الذائبة خلال تخميره للبيئة.

وتحتاج عملية التخمير إلى نحو ١١٠ دقيقة لكل ١٪ من تركيز السكر الموجود

بالمستخلص، وبعد ذلك يتم التخلص من خلايا الخميرة (الكتلة الحيوية) عن طريق الطرد المركزي، ثم يركز المحلول الرائق تحت تفريغ إلى عشر الحجم الأصلي.

ويتم تخميض المحلول المركز - بعد ذلك - إلى رقم حموضة -٢، وذلك بإضافة حمض الهيدروكلوريك، ثم يمرر هذا المحلول على عمود سيفادكس ج - ٢٥ (SephadexG25) للتخلص من الأملاح، وفي النهاية يترك المحلول المركز المحتوي على الصبغة ليجف.

ويحتوي المسحوق المجفف الناتج على ٥٥٪ من صبغة بيتاسيانين betacyanine. وتؤدي هذه الطريقة المتبعة للحصول على الصبغة الحمراء السابقة إلى خفض نسبة النترات، والتخلص من المركبات التي تعطي رائحة التربة.

وهناك أنواع أخرى من الصبغات التي يمكن الحصول عليها من بعض فطريات عيش الغراب البرية، حيث تستعمل في صباغة الألياف القطنية والصوفية، والتي تصنع منها لوحات فنية أو ملابس ملونة بألوان طبيعية زاهية.

وتختلف الأنواع المستخدمة من فطريات عيش الغراب في لون الصبغات التي يمكن الحصول عليها، فعلى سبيل المثال تستخدم الثمار الرفية للفطر *Inonotus hispidus* للحصول على اللون البني، بينما نحصل على الصبغات الحمراء والصفراء من الأنواع التابعة للجنس *Cortinarius*.

وتوضح اللوحة الملونة رقم ١٦ - في نهاية هذا الكتاب - نماذج من الأنسجة التي تمت صناعتها باستخدام خيوط قطنية وصوفية مصبوعة بصبغات طبيعية تم الحصول عليها من ثمار بعض فطريات عيش الغراب البرية.

وتستعمل مثل هذه الفطريات في صباغة الخيوط الطبيعية المصنوعة من الصوف أو القطن أو الكتان أو الحرير، وتحتاج الخيوط القطنية عند صباغتها إلى حرارة عالية بعكس الحال عند صباغة خيوط الحرير.

جدول (٢٧) : بعض الصبغات التى يمكن الحصول عليها من ثمار بعض فطريات عيش الغراب البرية (انظر اللوحة الملونة رقم ١٦)

اسم الفطر	لون الصبغة
<i>Daldinia concentrica</i>	١- فضي
<i>Fomes fomentarius</i>	٢- فضي لامع
<i>Gymnopilus penetrans</i>	٣- معدني (مثل الحديد)
<i>Inonotus hispidus</i>	٤- بني
<i>Hapalopilus nidulans</i>	٥- بنفسجي
<i>Amanita muscaria</i>	٦- أحمر

ويجب اختيار ثمار جيدة من فطريات عيش الغراب البرية، حيث يلعب عمر الثمرة ودرجة نضجها دوراً كبيراً فى تحديد لون الصبغة الناتجة منها؛ فالثمار الصغيرة والمتقدمة فى العمر ينتج عنها صبغات باهتة لا تحقق نجاحاً جيداً فى صبغ الألياف. كما يجب استخدام الثمار طازجة.

ويتم استخلاص الصبغة من ثمار عيش الغراب؛ وذلك بنقع كل نوع منها منفرداً فى حوضي من الصلب غير القابل للصدأ لمدة حوالى ساعة مع التقليب، ثم تغمر الخيوط فى محلول الصبغة لحوالى ساعة أخرى حتى يتم تشرب اللون. وقد تحتاج بعض الصبغات إلى وسط حامضي لتثبيتها؛ لذا ينصح بإضافة قليل من الخل إلى منقوع اللون.

وتتميز كثير من ثمار أنواع عيش الغراب البرية بألوانها الزاهية، التى يمكن استعمالها فى الصباغة؛ مثل الأنواع التابعة للجنس *Boletus* ذات الألوان الصفراء

والخضراء والبرتقالية والبنية،، بينما يمكن الحصول على اللون الأصفر والأخضر من ثمار فطر عيش الغراب *Hypholoma fasciculare*.

وفي بعض الأحيان تتم إضافة بعض المعادن للتحكم في لون الصبغة المراد الحصول عليها من مستخلص ثمار فطر عيش الغراب، كما هي الحال في فطر *Inonotus hispidus*، الذى يعطى لوناً أصفر مع الزنك ولوناً أخضر مع الحديد ولوناً بنيّاً مع النحاس.

كما تلعب حموضة محلول استخلاص اللون دوراً هاماً في تحديد لون الصبغة الناتجة؛ فعلى سبيل المثال يعطى مستخلص ثمار الفطر *Paxillus atrotomentosus* لون أخضر مع الألومنيوم في الوسط الحامض، بينما يعطى مستخلص ثمار الفطر *Thelephora palmata* مع الألومنيوم لوناً أزرق في نفس الوسط.

ومعظم الصبغات الناتجة من ثمار فطريات عيش الغراب غير سامة، ولكن هذه ليست قاعدة؛ لأن بعض هذه الصبغات شديدة السمية، كما هي الحال في الصبغة الزرقاء - وهى عبارة عن حمض *polyporic acid* - الناتجة من بعض الأنواع التابعة للجنس *Thelephora*.

ونظراً لعدم توفر كميات كبيرة من ثمار عيش الغراب الملونة التى يمكن الحصول منها على صبغات، فإن هذه الصبغات نادرة واستعمالها مكلف. ولكن يعمد الهواة إلى جمع هذه الثمار واستعمالها في صبغ الخيوط القطنية أو غيرها من الألياف الطبيعية التى تستعمل في صناعة لوحات فنية جدارية أو بعض الملابس الزاهية الألوان، والتي تباع بأسعار عالية.

ثامناً : إنتاج المشروبات الكحولية :

تعتبر المشروبات الكحولية من أقدم الأغذية المتخمرة - وخاصةً تلك المشروبات غير المقطرة *non distilled spirits* - التي أنتجها الإنسان في الحضارات القديمة؛ حيث يعتقد أن المصريين القدماء هم أول من قام بتصنيع البيرة (الجعة) من تحليل نشا الحبوب منذ أكثر من سبعة آلاف عام.

وكانت صناعة البيرة - حينذاك - تشبه صناعة الخبز؛ حيث كانت تؤخذ حبوب الشعير وتوضع في أوانٍ فخارية حتى يتم إنباتها، ثم تطحن، ويصنع منها خبز، يبلل بالماء بعد ذلك، ثم يترك ليتخمر. وقد أطلق على البيرة الناتجة اسم «البيرة الحامضية (البوظة boozah)».

وفي عام ١٨٣٧ قام الباحث الألماني Schwann بعزل فطر الخميرة وأطلق عليها اسم فطر السكر (*Saccharomyces (sugar fungus)*)، ثم استكمل العالم الفرنسي لويس باستير دراسة نشاط هذا الفطر في إنتاج النبيذ عام ١٨٦٦، وبعد ذلك في إنتاج البيرة عام ١٨٧٦.

وأوضح «باستير» في دراساته السابقة أن فطر الخميرة هو المسؤول عن التخمر وتحويل السكر إلى كحولٍ وثاني أكسيد الكربون، ثم قام «هانسن Hansen» بعد ذلك بعزل فطري الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* *S. carlsbergensis* وذلك في معامل كارلسبرج في كوبنهاجن، واستخدم هذه العزلات النقية في إنتاج البيرة.

أما بالنسبة إلى المشروبات المقطرة *distilled spirits*، فيعتقد أنها بدأت في الصين منذ حوالي ثلاثة آلاف عام، ولكنها لم تنتشر بنفس سرعة انتشار المشروبات غير

المقطرة. وكانت هذه المشروبات المقطرة تستخدم كأدوية لعلاج عديد من الأمراض حتى بداية القرن السابع عشر الميلادي، حين بدأ الفرنسيون في تقطير عصير العنب لإنتاج البراندي Brandy.

ولقد تم تطوير صناعة المشروبات المقطرة بعد ذلك بواسطة الفرنسيين والاسكتلنديين خلال القرن التاسع عشر، ومازالت الفكرة الأساسية في الأجهزة المستخدمة في التقطير مستعملة في إنتاج الويسكي الأسكتلندي، والبراندي الفرنسي.

وسوف نستعرض - فيما يلي - بعض المشروبات الكحولية الشائعة الاستخدام.

١ - المشروبات الكحولية غير المقطرة:

١ - البيرة Beer:

يستخدم في صناعة البيرة مواد أساسية؛ هي : حبوب الشعير، والماء، وحشيشة الدينار، والسكر، والخميرة. وتتضمن عملية تصنيع البيرة الخطوات التالية:

* تجهيز المولت malting:

يتم تجهيز المولت بنقع حبوب الشعير في الماء؛ لرفع نسبة الرطوبة بها إلى الحد الذي يسمح لها بالإنبات. وتستغرق مرحلة الإنبات ٣ - ٧ أيام على حرارة ٢٠°م - ٢٥°م؛ حيث تتوقف طول مرحلة الإنبات على نوع الشعير المستخدم.

والهدف من مرحلة إنبات حبوب الشعير تشجيع تخليق الإنزيمات المحللة؛ مثل إنزيمات endo-β- glucanase و α- amylase و peptidases. وكذلك إذابة جدار أندوسيرم الخلايا؛ ومن ثم تحليل المحتويات الذائبة إنزيمياً إلى مواد ذات وزن جزيئي أقل.

ويؤدي إنبات حبوب الشعير إلى تحليل البروتينات المخزنة إلى ببتيدات وأحماض

أمنية؛ حيث تتم هذه التغيرات الحيوية الهامة خلال وقتٍ قصيرٍ نسبياً، ودون تكاليف كبيرة.

ولقد وُجِدَ أن الحبوب غير النابتة تحتوي على إنزيم β -amylase، بينما يتكون إنزيم α -amylase و peptidases أثناء الإنبات؛ وذلك تحت تأثير هورمون حمض الجبرليك المفرز من الجنين إلى طبقة الأليرون بالحبة أثناء الأربع والعشرين ساعة الأولى من فترة الإنبات.

ويجب تغيير الماء عدة مراتٍ خلال فترة إنبات حبوب الشعير، حتى تنتهى هذه المرحلة قبل ظهور الريشة. وتُحَفَّف الحبوب المستنبته لوقف النشاط الإنزيمى؛ حيث يتكون لون وطعم ورائحة مرغوبة فى النهاية . ويتم تخفيف الحبوب على حرارة ٢٥٠، ثم ترفع درجة الحرارة تدريجياً، مع خفض الرطوبة النسبية؛ وذلك لتجنب تغير طبيعة البروتين الإنزيمى وتصل درجة الحرارة النهائية المستعملة فى تخفيف حبوب الشعير إلى ٢٨٠ فى المولت الفاتح، و ٢١٠٥ فى المولت الداكن اللون.

* إعداد مجروش المواد الخام واستخلاصه mashing:

بعد تخفيف حبوب الشعير التى سبق استنباتها (المولت)، يتم جرشها مع بعض حبوب الشعير الأخرى غير المستنبته، والتى قد تصل نسبتها إلى نحو ٣٠٪ من كمية الحبوب الكلية.

وقد تستخدم حبوب جافة لأنواع أخرى غير الشعير؛ مثل : الأرز ، أو الذرة، أو القمح؛ حيث يهدف استخدامها إلى خفض تكاليف المنتج النهائى. ويفضل عدم نزع غلاف الحبة أثناء عملية الجرش قدر الإمكان؛ وذلك لأنها تساعد على سهولة عملية الترشيح.

ويتم استخلاص مجروش المواد الخام بإحدى طريقتين : الأولى عن طريق الاستخلاص دون غليان infusion mashing؛ حيث تتم التحولات الحيوية كلها فى نفس الوعاء على حرارة ٦٥°م، وبعد ذلك ترشح، والطريقة الثانية: الاستخلاص

بالغليان **decontion mashing**؛ حيث تبدأ عملية الاستخلاص عند حرارة منخفضة نسبياً (٢٤٠°)، ثم ترفع تدريجياً حتى تصل إلى ٢٧٥°.

ويتم ذلك عن طريق أخذ جزء من المستخلص وجليه، ثم إعادته مرة أخرى إلى الجزء الأصلي. وتساعد عملية الغليان على تليين جدر الخلايا؛ مما يسهل عملية الاستخلاص. وتكرر هذه العملية عدة مرات، وبعد انتهائها ينقل المستخلص إلى وعاء آخر للترشيح.

وتتميز الطريقة الأولى (الاستخلاص دون غليان) بإنتاج منتج جيد النكهة ذي نسبة استخلاص منخفضة، بينما تتميز الطريقة الثانية بإنتاج منتج منخفض النكهة، في حين تكون نسبة استخلاصه مرتفعة. ويطلق على الناتج في هذه الحالة «منقوع المولت wort».

ومن أهم العوامل المحددة لجودة منقوع المولت : جودة المولت المستخدم، وخواص الماء المستخدم، ونوع الحبوب الجافة المضافة، ودرجة الحرارة المستخدمة، ورقم حموضة الوسط، وتركيز مجروش المواد الخام.

※ غلى منقوع المولت وتبريده :

يغلى منقوع المولت بعد ترشيحه في غلايات؛ بهدف تثبيط جميع الإنزيمات المحللة، والتخلص من نشاط الأحياء الدقيقة به، واستبعاد الأيونات غير المرغوبة - مثل الكالسيوم - بترسيبها في صورة أملاح غير ذائبة؛ مثل فوسفات الكالسيوم.

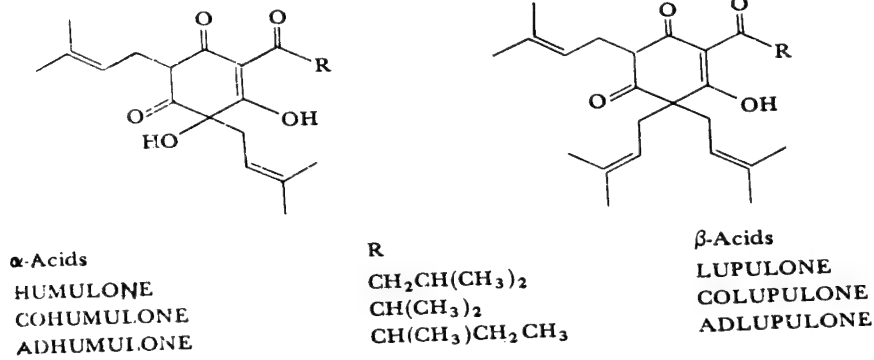
كما يؤدي غليان منقوع المولت إلى تركيزه، وكذلك إلى تغيير طبيعة البروتينات وترسيبها، وإلى إذابة السكريات المضافة، والتخلص من الروائح غير المرغوبة، واستخلاص المواد الذائبة من حشيشة الدينار **hop**، وأيضاً إلى كرملة السكريات لإعطاء اللون والنكهة المرغوبين في الناتج النهائي.

ويستمر غلى منقوع المولت لمدة ساعتين أو أكثر، وأثناء ذلك يضاف محلول

السكروز أو الجلوكوز؛ وذلك للمساعدة على توفير سكريات قابلة للتخمر بواسطة فطر الخميرة. ولكن يجب حساب هذه الإضافات بعناية؛ لأن زيادتها تؤدي إلى حدوث تخمرات غير مرغوبة تقلل من قيمة المنتج النهائي.

وتضاف حشيشة الدينار (*hop* (*Humulus lupulus*) أثناء الغليان على دفعات؛ بهدف إعطاء الطعم المميز للبيرة. وينتج هذا الطعم المرن نتيجة تحول مركبات humu-lone - وهي أحماض من النوع ألفا - إلى الصورة الضوئية المشابهة (أيزو - ألفا) كما هو موضح في شكل (١٠٦).

وتتميز هذه المركبات من النوع ألفا بعدم ذوبانها في الماء، وعند تحولها إلى الصورة الضوئية المشابهة (أيزو - ألفا) تكون ذائبة، وتعطى ذلك الطعم المر المألوف للبيرة. ويلاحظ أن الصورة الضوئية المشابهة (أيزو - بيتا) من نفس المركب ذات مرارة أقل، ولا تستخدم في صناعة البيرة.



شكل (١٠٦) : تركيب الأحماض من نوع ألفا وبيتا الموجودة في حشيشة الدينار.

وبعد تمام الغليان، والتأكد من تحول أقصى كمية من الأحماض ألفا الموجودة في حشيشة الدينار، يبرد منقوع المولت، وتفصل مخلفات حشيشة الدينار والأملاح المترسبة والمواد الأخرى غير الذائبة؛ وذلك عن طريق الطرد المركزي، وينقل منقوع المولت إلى خزانات التخمر.

* التخمر Fermentation:

يتم في هذه المرحلة تلقيح منقوع المولت wort باللقاح الأولي (البادىء) من فطر الخميرة المناسبة. وتختلف كمية اللقاح، ودرجة حرارة التحضين ومدتها باختلاف سلالات الفطر المستخدمة، ونوع البيرة المراد إنتاجها.

وينتج أثناء تخمر المولت بفطر الخميرة - بصفة عامة - أكثر من ٦٠٠ مركب مختلف تسهم في تحديد النكهة النهائية للبيرة الناتجة. ويوضح شكل (١٠٧) التعريفات المستخدمة لدى المحكمين؛ للحكم على طعم ورائحة أنواع البيرة المختلفة.

وترجع هذه النكهات المختلفة للبيرة الناتجة إلى تأثير فطر الخميرة على مكونات منقوع المولت (الورت wort) من المواد الكربوهيدراتية والأحماض الأمينية وغيرها من مواد تتكون تحت الظروف اللاهوائية.

وتنقسم الخمائر المستخدمة في صناعة البيرة إلى أربعة أقسام تبعاً لقدرتها على التجمع flocculation:

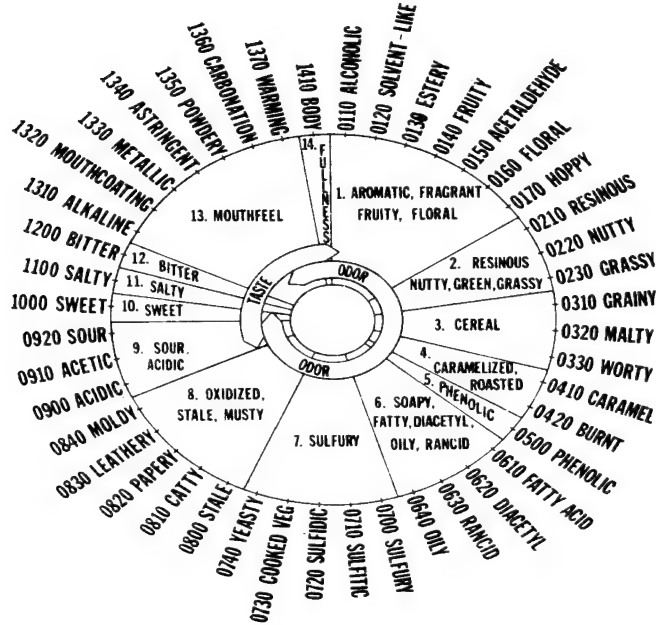
القسم الأول : خمائر ليست لها القدرة على التجمع، وتظل الخلايا معلقةً بمنقوع المولت حتى نهاية التخمر.

القسم الثاني : خمائر تتجمع بعد استهلاك نحو ثلثي السكريات القابلة للتخمر في منقوع المولت وتكمل عملية التخمر، ويخلو الناتج النهائي نسبياً من خلايا الخميرة.

القسم الثالث: خمائر تشبه القسم السابق، ولكنها تتجمع بسرعة في صورة متجنية

caseous، ويتبقى جزء من السكريات القابلة للتخمر في منقوع المولت.

القسم الرابع : خمائر تتجمع خلاياها منذ بداية التخمر، وتستمر الخلايا الجديدة المتكونة متصلة بالخلايا الأمية ولا تنفصل عنها؛ ومن ثم تطفو جميع خلايا الخميرة على سطح منقوع المولت، ولا يكتمل تخمر جميع محتوياتها من السكريات.



شكل (١٠٧) : التعريفات المختلفة المستخدمة في الحكم على طعم ورائحة أنواع البيرة المختلفة (عن

. (Russel & Stewart, 1992)

وقد يطلق اسم التخمير القمى **top fermentation** على القسم الرابع، بينما يطلق على خمائر القسم الأول اسم «التخمير القاعى **bottom fermentation**»، إلا أن هذا التقسيم نسبى.

ويفضل استعمال خمائر القسم الأول فى تصنيع البيرة من النوع **Lager**، بينما تستعمل خمائر القسم الثانى فى تصنيع البيرة من النوع **Ale**.

ويستعمل فى صناعة النوع الأخير من البيرة (**Ale**) سلالات من الخمائر السطحية التابعة للفطر *Saccharomyces cerevisiae*؛ وهى تتميز بإنتاجها رغاوى قشدية على سطح منقوع المولت أثناء تخمره. وتستغرق عملية التخمير ٣-٥ أيام على حرارة ٢٠°م.

أما صناعة البيرة من النوع **Lager**، فتستخدم فى صناعتها سلالات من الخمائر القاعية (المتخمرة عند قاع وعاء التخمير) التابعة للفطر *S. carlsbergensis*. وتتميز هذه الخميرة بعدم إنتاجها للرغوة؛ حيث تترسب خلاياها عند قاع وعاء التخمير فى نهاية مرحلة التخمير التى تستمر ٧-١٤ يوماً على حرارة ٥°م-١٥°م.

وبعد هذه المرحلة من تخمر منقوع المولت، يطلق على ناتج التخمير اسم «البيرة الطازجة **green beer**»، والتى تمر - بعد ذلك - بعدة مراحل قبل أن تكون صالحة للاستهلاك. وتضم هذه المراحل إزالة بعض المواد الطيارة، والتشبييع بغاز ثانى أكسيد الكربون، وفصل خلايا الخميرة (الكتلة الحيوية)، وإزالة بعض المركبات العديدة الفينول، وإزالة الشوائب العالقة، بالإضافة إلى إنتاج بعض المواد المنكهة.

وتستغرق فترة تعتيق البيرة عدة أسابيع على حرارة صفر - ١٠°م بالنسبة إلى النوع **Ale**، بينما تزداد هذه الفترة إلى عدة شهور على حرارة صفر - ٣°م بالنسبة إلى النوع **Lager**.

وبعد انتهاء فترة التعتيق، تُجرى عملية الطرد المركزى بهدف إزالة خلايا الخميرة، ثم يضاف غاز ثانى أكسيد الكربون، وترشح البيرة الناتجة لإزالة الشوائب العالقة، وتعبأ

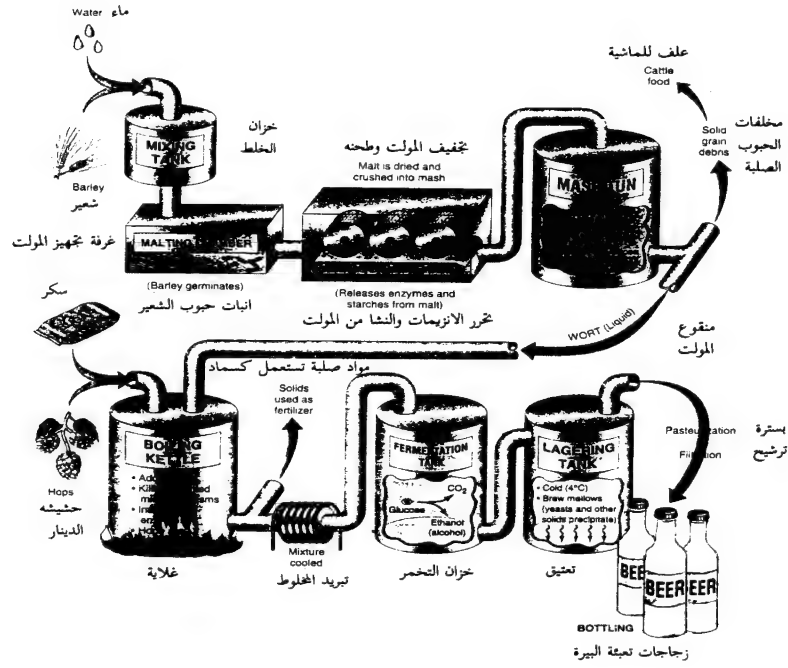
- بعد ذلك - فى زجاجاتٍ أو علبٍ معدنية. وتتم بسترة هذه العبوات لزيادة فترة صلاحيتها للتخزين.

ولقد استبدلت بعض مصانع إنتاج البيرة عملية التعتيق التقليدية، والتي تستغرق فترةً طويلةً نسبياً تتراوح بين عدة أسابيع وعدة شهور، بطريقةٍ أخرى هى التعتيق بالطريقة المستمرة، والتي تستغرق فترةً زمنيةً تتراوح بين ساعتين وثلاث ساعات فقط، منتجةً بيرةً جيدةً ذات نكهةٍ عالية.

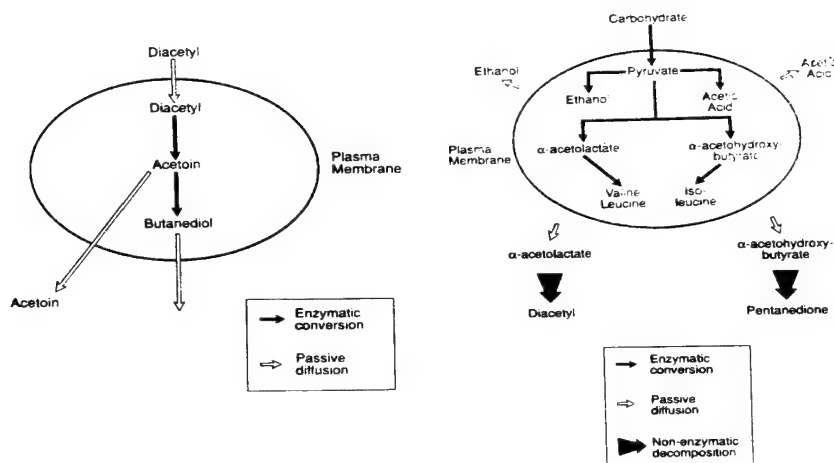
ويتم التعتيق بالطريقة المستمرة (لوحة ملونة رقم ٤)؛ وذلك عن طريق إجراء عملية الطرد المركزى لحلول البيرة الطازجة **green beer**؛ لإزالة خلايا الخميرة، والشوائب العالقة، ثم يستمر المحلول، وبعد أن يبرد يمرر على عمودٍ مسكّنٍ عليه خلايا الخميرة التى تتم عن طريقها عملية التعتيق، وخاصة اختزال مركب داي استيل (شكل ١٠٩)؛ لإعطاء النكهة المناسبة، ثم يتم ترشيح المنتج النهائى ويتم تعبئته.

ويمكن أيضاً إجراء عملية تخمر منقوع المولت نفسها بالطريقة المستمرة، بالإضافة إلى اتباع الطريقة نفسها فى تعتيق البيرة الطازجة. إلا أن هذه الطريقة مازالت غير منتشرة على نطاقٍ واسع.

وتحتوى البيرة من النوع **Ale** والنوع **Lager** على حوالى ٤٪ كحول إيثانول، إلا أن كلا النوعين يختلف فى الطعم واللون. وتحت كل نوع منهما توجد أنواع فرعية، تختلف فى مواصفاتها؛ فعلى سبيل المثال، تختلف أنواع البيرة **Pilsner** و **Einbecker** و **Münich** بعضها عن بعض، على الرغم من أنها جميعاً إنتاج ألمانى، بينما هناك أنواعٌ أخرى ترتفع فيها نسبة الكحول إلى ٦٪ أو أكثر؛ مثل بيرة **Stout** ذات اللون الداكن.



شكل (١٠٨) : مراحل صناعة البيرة.



(أ) : إنتاج مركب داي إسيثيل بواسطة الخميرة. (ب) : اختزال مركب داي إسيثيل في البيرة بواسطة الخميرة.

شكل (١٠٩) : إنتاج مركب داي إسيثيل Diacetyl أثناء عملية التخمير بواسطة الخميرة، واختزاله أثناء عملية التعتيق بواسطة الخميرة. يلاحظ أن معدل الاختزال يصل إلى عشرة أضعاف معدل الإنتاج (عن Russell & Stewart, 1992).

ب- النبيذ Wine:

النبيذ هو العصير المتخمّر للعنب الطازج (*Vitis vinifera*). وتعتبر إيطاليا وفرنسا أكثر دول العالم إنتاجاً للنبيذ؛ حيث ينتجان وحدهما أكثر من ٩٠٪ من الإنتاج العالمي، والباقي تنتجه دول أخرى؛ مثل الولايات المتحدة، وأستراليا، ونيوزلندا، وإنجلترا. ويفضل استعمال العنب المنزوع في إيطاليا وفرنسا وجنوب ألمانيا في صناعة النبيذ،

وذلك يرجع إلى موسم النمو الطويل خلال صيفٍ دافئٍ تتراوح درجة حرارته بين ٢٠ و ٢٥؛ حيث يناسب ذلك إنتاج سكر الجلوكوز فى الثمار، ولا تتكون أحماض عضوية.

وتتوقف جودة النبيذ على نوع العنب المستخدم ونوع التربة المنزرع بها، وطريقة الزراعة، والظروف البيئية التى يتعرض لها. ويتم حصاد العنب عند وصول نسبة السكر ودرجة الحموضة (مقدرة كحمض المالك) ولون قشرة الثمار إلى الدرجة المناسبة.

ويتم عصر ثمار العنب دون هرس بذورها؛ وذلك لتجنب الطعم المر الذى ينتج عن ذلك. ويصل متوسط عصر طن ثمار العنب إلى حوالى ٦٢٥ لتر عصير. وينتج النبيذ الأحمر من عصر العنب الأسود الذى يحتوى على صبغة الأنثوسيانين Anthocyanine التى تنتقل من الثمرة إلى العصير.

ويعتبر عنب النبيذ *Vitis vinifera* أنسب أنواع العنب لصناعة النبيذ؛ وذلك للأسباب التالية:

- * احتواء العصير على تركيز عالٍ من المواد الغذائية التى تجعل منه بيئةً صالحةً لنمو الخمائر.
- * احتواء العصير على حموضةٍ طبيعيةٍ مرتفعةٍ تعمل على تثبيط الأحياء الدقيقة الضارة وغير المرغوبة.
- * ارتفاع تركيز السكر فى العصير يؤدى إلى إنتاج تركيز عالٍ من الكحول، يعمل - أيضاً - على تثبيط الأحياء الدقيقة وغير المرغوبة.
- * احتواء هذا النوع من العصير على مركبات نكهةٍ قويةٍ تنتقل من العصير مباشرةً إلى المنتج النهائى.

وتتم إضافة ثانى أكسيد الكبريت (على هيئة مسحوق ميتايفسفيت البوتاسيوم) على ثمار العنب قبل عصرها؛ وذلك لتثبيط أكسدة اللون إلى البنى، وأيضاً لتثبط نمو

كثير من الأحياء الدقيقة غير المرغوبة، ولتوفير ظروف لاهوائية خلال عملية العصر. وبعد تمام عصر ثمار العنب، ينقل المهروس **must** الناتج إلى وعاء التخمر، ويضاف إليه اللقاح الأولي (البادىء) من فطر الخميرة *S. cerevisiae* (*S. ellipsoide*- *us*). ويراعى استخدام مزرعة نقية من الخميرة لإنتاج نبيذ عالي الجودة؛ حيث يتبع ذلك على مستوى الإنتاج التجارى، بينما تستعمل المعامل الصغيرة مزارع مختلطة من فطريات الخميرة؛ منتجة نبيذاً أقل جودة.

وتتميز سلالات الخميرة المستعملة فى الإنتاج التجارى للنبيذ بتحملها للتركيزات العالية من الكحول والكبريت. وتتم عملية التخمر على حرارة ٢٥° - ٢٩°، وأحياناً تتم على ١٠°. ويراعى عدم ارتفاع درجة الحرارة عن ٣٠°، وإلا أدى ذلك إلى موت خلايا الخميرة المستعملة فى عملية التخمر.

وتستغرق عملية التخمر نحو ٣-٥ أيام بالنسبة إلى النبيذ الأحمر، وحوالى ٧ أيام - ١٤ يوماً بالنسبة إلى النبيذ الأبيض. وتتكون مركبات النكهة خلال مرحلة التخمر بواسطة الخميرة، وتختلف هذه المركبات عن تلك الموجودة طبيعياً فى عصير العنب الخام؛ وعلى ذلك فإن نكهة المنتج النهائى للنبيذ هى محصلة ما أنتجته الخميرة من نكهات، بالإضافة إلى نكهة العنب الطبيعية.

وبعد انتهاء عملية التخمر يتم ترشيح العصير المتخمر، وتستبعد الرواسب - بما فيها خلايا الخميرة - وكذلك الشوائب العالقة. ويعبأ العصير المتخمر فى براميل خشبية؛ بحيث تملأ البراميل حتى نهايتها؛ بحيث لا تحتوى بداخلها على هواء، ثم تغلق جيداً. ويراعى إحكام إغلاق البراميل؛ لضمان عدم تسرب الهواء إلى العصير المتخمر؛ حتى لا يتكون حمض خليك تحت الظروف الهوائية. وتخزن هذه البراميل على حرارة ١٥° - ١٨° لمدة طويلة تختلف تبعاً لنوع الناتج النهائى المرغوب.

وبعد انتهاء فترة التخزين فى البراميل الخشبية، يرشح النبيذ الناتج، ثم يعبأ فى زجاجات خاصة، وتخزن هذه الزجاجات على حرارة ١٠° - ١٥° لمدة طويلة قد

تصل إلى عشرات السنين. ويعتبر التخزين الطويل في هذه الحالة نوعاً من أنواع التعتيق للأصناف الممتازة.

والنبذ الرخيص تتم تعبئته في نفس عام التصنيع، في حين تترك الأنواع الأخرى المرتفعة الثمن لتتعتق في البراميل الخشبية عدة سنوات، ثم في الزجاجات لسنوات أخرى طويلة.

ويعتبر نبذ المائدة *table wine* من الأنواع المعتقة؛ حيث يحتوى على ٩-١٥٪ كحولاً، بينما تقل نسبة المواد الكربوهيدراتية فيه إلى نحو ٣,٠٪ أو أقل. ويلاحظ أن ارتفاع المواد الكربوهيدراتية عن النسبة السابقة في النبذ تساعد على نمو البكتيريا فيه؛ مما يؤدي في النهاية إلى تلف النبذ.

ولقد وجد أن بعض أنواع بكتيريا حمض اللاكتيك يمكنها النمو على النبذ خلال فترة التعتيق؛ حيث تخمر حمض المالك الموجود طبيعياً في عصير العنب إلى حمض لاكتيك. ويعتبر هذا التحول الحيوى مرغوباً في بعض أنواع النبذ، ولكن يمكن تثبيطه بإضافة ثاني أكسيد الكبريت أو حمض الفيوماريك إلى النبذ الطازج قبل تعتيقه إذا رغب المنتج في ذلك.

ج- الشمبانيا Champagne:

تعتبر الشمبانيا نبذاً محتوياً على كميات كبيرة من ثاني أكسيد الكربون تجعله فواراً *sparkling wine*. وتصنع الشمبانيا في شمال فرنسا من النبذ الأبيض المحتوى على ثاني أكسيد الكربون؛ وذلك باستخدام سلالات خاصة من فطر الخميرة *Sac-charomyces ellipsoideus*، تتميز بتحملها ثاني أكسيد الكربون، الذى يعمل على تكوين رواسب مرغوبة في زجاجات الشمبانيا.

وتضاف - عادةً - كمية من السكر أثناء تعبئة الشمبانيا في زجاجاتها، ثم تخزن هذه الزجاجات لفترة، ثم تفتح لإزالة طبقة خلايا الخميرة المتكونة على السطح بعد رجها، ثم تغلق بعد ذلك بسدادات فليينية.

وفي هذه المرحلة يتكون غاز ثانى أكسيد الكربون على هيئة ethyl pyrocarbon-atene، وهذا يعطى الصفة المميزة للشمبانيا المتألفة بفقاعات غاز ثانى أكسيد الكربون المتكونة طبيعياً. وفي الأنواع الرخيصة من الشمبانيا، يتم دفع غاز ثانى أكسيد الكربون صناعياً فى الزجاجات، ولكن هذا لا يعطى الفوران الطبيعى المميز للشمبانيا الجيدة.

د - النبيذ المدعم Fortified wine:

يقصد بالدعم إضافة كحول الإيثانول إلى نبيذ العنب بغرض رفع نسبة الكحول إلى أكثر من ٢٠٪. ومن أشهر المشروبات الكحولية التابعة للنبيذ المدعم : الشيرى Sherry، والبورت Port، والماديرا Madeira.

ويتم تصنيع الشيرى من عنب صنف Palomeno؛ الذى تتميز ثماره بحموضتها المنخفضة؛ حيث يتم تجفيف هذه الثمار شمسياً لمدة ٢٤ ساعة؛ لزيادة الكثافة النوعية للعصير الناتج. وبعد ذلك تنزع أعناق الثمار، وتضاف على حبات الثمار كبريتات كالسيوم، وطرطرات بوتاسيوم، وأحياناً يضاف ثانى أكسيد الكبريت، ثم تعصر لإزالة الجلد والمواد الصلبة الأخرى.

وينتج من عصر العنب عصير ذو كثافة نوعية ١,٠٨٥ - ١,٠٩٥، وحموضة ٠,٣٥ - ٠,٤٥ ٪ مقدرة كحمض طرطريك. ويحتوى عصير العنب على تانينات بتركيز ٣٠٠ - ٦٠٠ ملليجرام لكل لتر.

ويتم تخمير العصير طبيعياً؛ وذلك على حرارة ٢١°م لمدة ٤٨ ساعة، ثم يضاف كحول الإيثانول ٩٥٪؛ لرفع نسبة الكحول بالعصير إلى ١٤,٥ ٪ - ١٥,٥ ٪. ويتم تخضين العصير بعد ذلك فى براميل خشبية، تحت ظروف لاهوائية؛ وذلك لى تنمو الخميرة على السطح.

ويعتقد أن فطر الخميرة *Saccharomyces oviformis* هو الذى يستخدم كحول الإيثانول والجلسرول فى إنتاج مركبات النكهة المميزة؛ حيث يستغرق ذلك نحو ستة

شهور، بعد ذلك تعدل نسبة الكحول مرة أخرى إلى ١٥٪ - ١٨٪، ثم يعاد تخضين الشيرى مرة أخرى لعدة شهور.

وبعد انتهاء فترة التخضين، يتم ترشيح الشيرى للتخلص من الشوائب العالقة، ثم يعبأ فى زجاجات. وفى بعض الأحيان يضاف السكر إلى الشيرى؛ حتى يصبح ذا طعم حلوى *sweet sherry*، وربما لا يضاف إليه سكر؛ حيث يعرف باسم "*dry sherry*". وفى بعض الأحيان، تضاف بعض المستخلصات النباتية إلى النبيذ المدعم؛ حيث يعرف فى فرنسا باسم «فرموث *Vermouth*»؛ وهو نبيذ أبيض لا يحتوى على سكر، وقد يصنع من النبيذ الأحمر؛ مثل الفرموث الإيطالى.

هـ- المشروبات الكحولية المصنعة من التفاح والكمثرى:

تستخدم كلمة سيدر *cider* لوصف الناتج المتخمّر من عصير التفاح (*Malus pu-mila*). أما كلمة سيدر *syder* فيقصد بها عصير التفاح غير الكحولى (غير المتخمّر)، وهى تساوى عصير التفاح الطبيعى النقى *pure natural apple juice*.

ويطلق على المشروب الكحولى فى الولايات المتحدة *hard cider*، بينما يطلق على المشروب غير الكحولى *fresh cider* أو *farm cider* أو *sweet cider*. أما فى الدول الأخرى فتطلق كلمة *cider* على المشروب الكحولى، بينما يسمى المشروب غير المتخمّر عصير التفاح.

ويتم تخضير السيدر *cider* (شمبانيا التفاح) من عصير التفاح النقى، أو من مخلوط عصير التفاح والكمثرى. ولاتضاف إلى هذا العصير أية مواد سكرية أخرى سوى سكر القصب أو البنجر (السكروز). كما لاتضاف أية مواد أخرى إلى العصير؛ مثل: الأحماض العضوية، أو الطعوم الصناعية، أو ثانى أكسيد الكربون، أو أية مواد حافظة، ولا حتى مواد ملونة.

ويجهز العصير عن طريق هرس ثمار التفاح (أو التفاح والكمثرى) وتحويلها إلى عجينة؛ حيث يستخلص العصير بعد ذلك بالضغط الهيدروليكي أو بالطرد المركزي، ثم

يعدل تركيز العصير إلى التركيز الطبيعي عن طريق إضافة الماء إذا كان العصير مركزاً، أو إضافة سكروز وحمض ماليك إذا كان العصير مخففاً.

ويضاف غاز ثاني أكسيد الكربون لوقف إنزيمات الأكسدة التي تحتاج إلى الأكسجين في عملها، وأيضاً لتثبيط نشاط بعض أنواع البكتيريا المسببة للفساد. ويضاف اللقاح الأولي (البادىء) من خميرة *S. cerevisiae*، ثم يترك العصير ليتخمر على درجة حرارة الغرفة لفترة تتراوح بين أسبوع واحد وأربعة أسابيع، حتى تتخمر جميع السكريات القابلة للتخمر.

وبعد انتهاء مرحلة التخمر، تتم تنقية العصير المتخمر بالطرد المركزي، ثم يخزن العصير تحت ظروف لاهوائية. وبعد ذلك يستمر الناجح النهائي، ويضاف إليه ثاني أكسيد الكربون، ويعبأ بعد ذلك في زجاجات. وفي بعض الحالات، يعدل تركيب مكونات السيدر قبل الترشيح، ثم يستمر بعد ذلك ويعبأ.

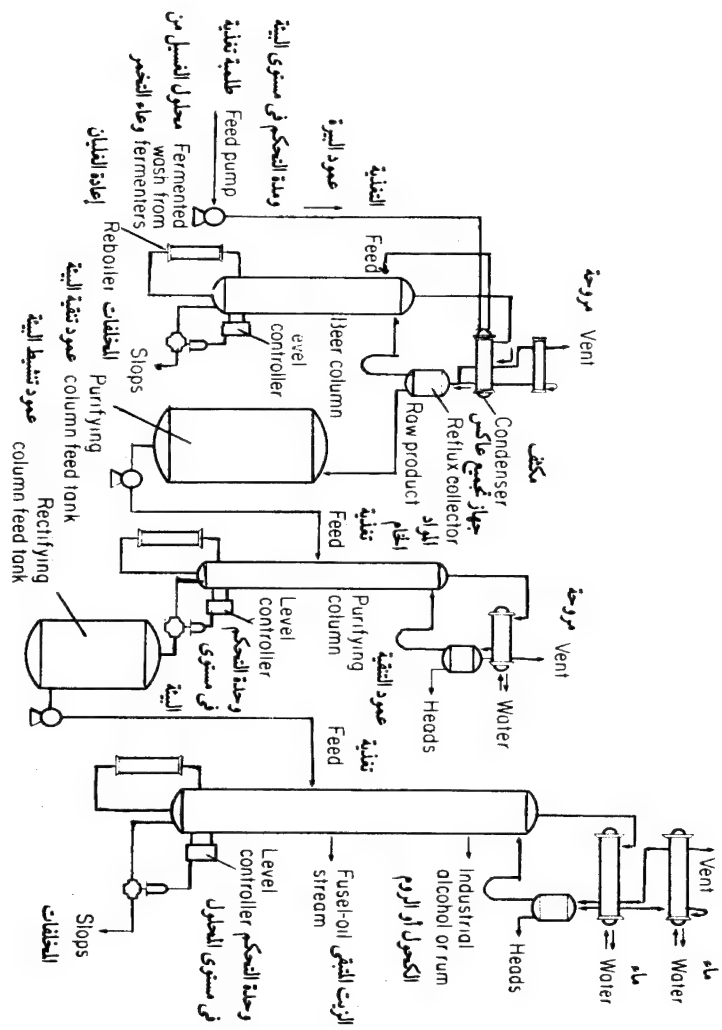
ويحتوى السيدر على حوالى ٤-٦٪ كحولاً، فإذا زادت النسبة إلى ٧,٥٪ - ٨٪ كحولاً أطلق على الناجح اسم «شمبانيا السيدر champagne cider».

ولا تقتصر صناعة النبيذ على العنب والتفاح والكمثرى، ولكن يمكن صناعته من ثمار فاكهة أخرى؛ مثل : الفراولة ، الكريز، والخوخ، والبرقوق، والبلح، وأيضاً من عسل النحل.

٢- المشروبات الكحولية المقطرة Distilled alcoholic beverage :

١- الروم Rum:

يصنع الروم من سكر القصب (المولاس)؛ الذى يكون تركيز السكر به حوالى ١٠-١٢٪ ، والمواد النيتروجينية ٢-٢,٥٪، ويتراوح رقم حموضته بين ٥,٥ و ٨,٥. وتتم إضافة الخميرة *S. cerevisiae* والتخضين على حرارة ٢٨-٣٢ م لمدة ٢٨ - ٤٨ ساعة.



مثل (١١٠) : رسم تخطيطي لحظ الدم بالطريقة المستمرة من مولاى القلب.

وبوضح شكل (١١٠) الطريقة المستمرة لإنتاج الروم؛ حيث يتكون خط الإنتاج من ثلاثة أعمدة، يطلق على العمود الأول «عمود البيرة beer column»؛ ويستخدم في إزالة الكحول من سائل التخمير fermented wash؛ حيث تحتوى الأبخرة الناتجة من هذا العمود على الشوائب القابلة للتطاير، والتي تتبخر مع الكحول.

ويتم تكثيف جزء من الكحول المتطاير، ويسترجع مرة أخرى، بينما يذهب الجزء الآخر إلى خزان الإضافة feed tank؛ حيث يتجه إلى عمود التنقية purifying col-umn. ويخفف سائل المتقطر الخام raw distillate بالماء قبل دخوله إلى عمود التنقية؛ بحيث يكون تركيز الكحول فيه حوالى ٢٠٪ - ٥٠٪.

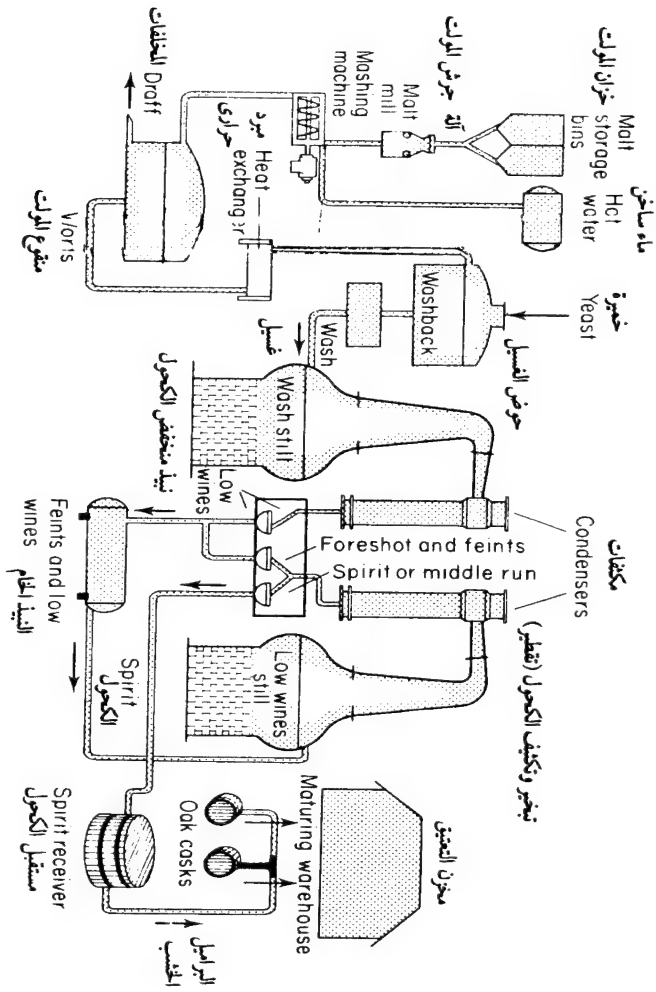
وتتجمع الشوائب الخفيفة - ذات الوزن الجزيئى الصغير - عند قمة عمود التنقية؛ حيث يتم التخلص منها، بينما يتجمع الكحول أسفل العمود؛ حيث يتم نقله إلى العمود الثالث الذى يطلق عليه اسم عمود إعادة التقطير rectifying col-umn؛ والذى يستخدم لتركيز الكحول إلى التركيز المناسب، وإزالة ما تبقى من شوائب.

ويتم الحصول على المنتج النهائى (الروم) من أعلى العمود، بينما تبقى فى وسط العمود طبقة زيتية متبقية fusel oil تعتبر ناتجاً ثانوياً متخلفاً عن هذه الصناعة، ويتم الاستفادة منها فى بعض الصناعات الجانبية، أو فى بعض الأغراض المعملية.

ويجمع الروم الخام، ويتم تخزينه فى براميل خشبية بغرض التعتيق؛ لفترة تتراوح بين سنتين وعشر سنوات، وقد تصل إلى خمسة عشرة سنة. ويتميز الروم باحتوائه على عديد من الكحولات المختلفة والأسترات والمواد النيتروجينية واللاكتونات.

ب- الويسكى Wisky:

يصنع الويسكى عن طريق الاستخلاص المائى بدون حرارة للكحول من مولت الشعير، أو من الحبوب الأخرى التى يتم تخميرها باستخدام فطر الخميرة S. cerevisiae. ويختلف الويسكى فى إنتاجه من دولة إلى أخرى، تبعاً للمواد الخام المستخدمة فى تصنيعه، وطريقة التقطير. ويمكن اعتبار الويسكى ناتج تقطير البيرة غير المضاف إليها حشيشة الدينار unhopped beer.



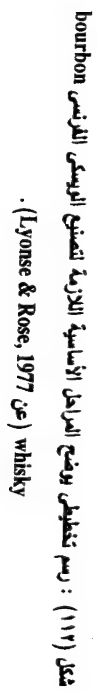
شكل (١١١) : رسم تخطيطي يوضح المراحل الأساسية اللازمة لتصنيع ويسكي المولت الأسكتلندي (عن
Lyons & Rose, 1977).

ويتم تصنيع الويسكى الاسكتلاندى (شكل ١١١) من مولت الشعير، بينما يصنع الويسكى الفرنسى (شكل ١١٢) من خليط من الحبوب، ثم يبدأ الاستخلاص بدون غليان فى النوع الاسكتلاندى، وبالغليان فى النوع الفرنسى.

ويبرد منقوع المولت (wort) ، وتضاف إليه الخميرة *S. cerevisiae* فى وعاء التخمر (washbacks (fermentor)؛ حيث يتم التخمر حتى الوصول إلى محلول وزنه النوعى -١، ويتم بعد ذلك تقطيره على عدة مراحل : المرحلة الأولى فى wash still فى الطريقة الاسكتلاندية، أو فى beer still فى الطريقة الفرنسية (شكل ١١١ و ١١٢)؛ وذلك لفصل ما يتبقى من المولت؛ حيث يستخدم فى صناعة الأعلاف.

وتجمع نواتج تقطير منقوع المولت، وتعبأ فى براميل خشبية مصنوعة من خشب البلوط؛ حيث تخزن بها لفترات تختلف باختلاف القواعد المتبعة من دولة إلى أخرى؛ حيث تصل فترة التخزين إلى سنة واحدة على الأقل فى النوع الفرنسى، بينما لاتقل عن ثلاث سنوات فى النوع الاسكتلاندى.

ويمكن التمييز بين المشروبات الكحولية المقطرة بعضها عن بعض عن طريق اللون، فعلى سبيل المثال نجد أن الويسكى والروم والبراندى يتراوح لونها بين البيج الفاتح والبنى الداكن، فى حين أن الجن Gin والفودكا Vodka عديما اللون.



الباب العاشر

دور الفطريات في التقنية الحياة الطبية

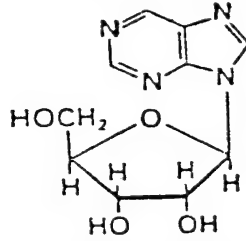
دور الفطريات فى التقنية الحيوية الطبية

أولاً: إنتاج المضادات الحيوية والمنتجات الأخرى المفيدة طبيًا

يعود استخدام النموات الفطرية فى معالجة الجروح الملوثة بالبكتيريا (المتقيحة) إلى الحضارات الإنسانية القديمة منذ قرونٍ طويلةٍ مضت؛ حيث كان العلاج بفطريات العفن mould therapy -فى ذلك الوقت- نوعاً من التراث الشعبى، دون أن يكون له أى أساس علمى.

وعلى الرغم من ذلك، فإن هناك ما يثبت أن أجدادنا القدماء كانوا يختارون -بعناية- نوع فطر العفن الواجب استخدامه لمعالجة الحالات المختلفة للجروح المتقيحة والملوثة بالبكتيريا.

كما استخدمت بعض ثمار فطريات عيش الغراب فى علاج الجروح؛ مثل فطر عيش غراب الحقل من الجنس *Agaricus*؛ الذى كان يستعمل فى علاج الالتهابات الجلدية؛ حيث اكتشف مؤخراً احتواء الفطر *A.nebularis* على المضاد الحيوى nebu-larine المثبط لنمو الميكوبلاكتيريا (Milton et al., 1992).



شكل (١١٣) : التركيب الكيميائى للمضاد الحيوى نيبولارين .

وكذلك استخدمت الكرات النافخة العملاقة gaint puff bals كعلاج شعبي ناجح لوقف النزيف الدموي؛ حيث كانت تخلط هذه الثمار بعد هرسها بالثوم، ثم يوضع المخلوط على الجروح؛ فيوقف تدفق الدم، ويمنع تلوث الجرح بالبكتيريا.

كما استخدمت جراثيم الفطر السابق كمادة موقفة للنزيف في أوروبا خلال القرن الثاني الميلادي، وربما كان ذلك هو سبب احتفاظ قدماء الرومان بكميات منها داخل قوارير صغيرة محفوظة في فجوات على طول السور الذي بناه القيصر الروماني هارديان (١١٧-١٣٨ ميلادية) لتأمين حدود مملكته.

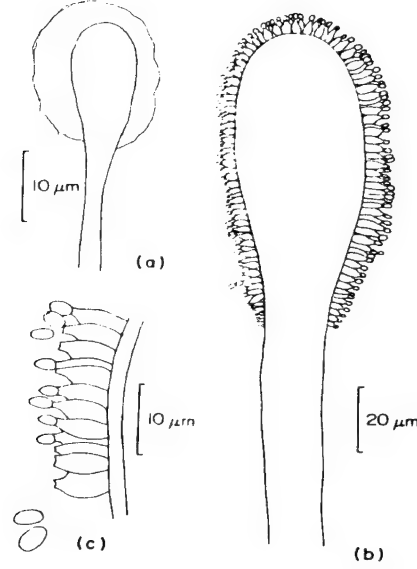
وفي أمريكا الشمالية، استخدمت الكتل الميسليومية لفطر عيش الغراب الرفي *Fomi-topsis officinales* -التي تنتشر على الخشب المتعفن- بواسطة الحطابين؛ لوقف النزيف الناتج من جروح «بلط» تقطيع الكتل الخشبية.

ومن الوصفات الشعبية الهندية لعلاج الجروح، إضافة مسحوق خميرة الخباز إلى دقيق القمح، وعجنها بقليل من الماء؛ حتى تصبح عجينة سميكة تغلب قليلاً على النار، ثم توضع على الجرح لمدة ليلة. وهناك وصفات شعبية أخرى يستعمل فيها الخبز المتعفن وقش القمح المتعفن لعلاج الجروح المتقيحة بفعل البكتيريا، كان الغجر الأوروبيون يستعملونها.

وفي بداية القرن التاسع عشر استعمل اللورد الإنجليزي جوزيف ليستر Lord J. Lister (1827-1912) عزلات من الجنس *Penicillium* لمعالجة الجروح الملوثة، ثم شاع -بعد ذلك- استخدام الفطريات في علاج الجروح بواسطة الأطباء المحليين فيما يسمى بالطب الشعبي. إلا أننا لانعلم -على وجه الدقة- ما إن كانت مثل هذه المستحضرات الفطرية تحتوى على نوع أو أنواع ما من المضادات الحيوية المعروفة أم لا.

ومن المعتقد أن فاعلية المستحضرات السابقة -المنتجة من فطريات العفن- ترجع إلى وجود بعض نواتج التمثيل الغذائي الثانوى للفطر المستخدم ذات تأثير مثبط لنمو البكتيريا antibacterial metabolites؛ مثل المضاد الحيوى باتيولين patulin الذى

يفرز بواسطة أنواع مختلفة من الفطريات؛ مثل: *Aspergillus clavatus*، و *Penicilli*، *P. expansum*، و *um patulum*. إلا أن الأبحاث الحديثة أظهرت أن هذا المضاد الحيوى له تأثيرات سامة على حيوانات التجارب، وله تأثير مسرطن للفئران carcino-genic effect، كما يسبب سمية عصبية neurotoxicosis فى الماشية.



شكل (١١٤) : الفطر *Aspergillus clavatus*.

a - الشكل العام للرأس الكونيدى.

b - الرأس الكونيدى بوضوح تراص القارورات phialides.

c - قارورات تخرج من فوهتها كونيديات.

وهكذا نشط العلماء للبحث عن مضاد حيويٍّ مأمونٍ؛ لذا زاد الاهتمام بدراسة المستحضرات الخام المنتجة بواسطة سلالات الفطر *Penicillium notatum* المنتجة للمضاد الحيوي بنسلين. وفي مستهل أربعينيات القرن الحالي استخدمت هذه المستحضرات الخام من البنسلين في معالجة الجروح المتقيحة بفعل التلوث البكتيري، ثم بدأت تنقية البنسلين، وبدأ استخدامه لعلاج جرحى الحرب العالمية الثانية من الجنود، وبعد ذلك بسنوات.. أصبح متاحاً للمدنيين.

وعلى الرغم من أن البنسلين penicillin كان أول مضاد حيويٍّ حقيقيٍّ تستخدمه البشرية في علاج جروحها وتسكين آلامها، إلا أنه اكتشفت بعد ذلك آلاف المركبات الناتجة من التمثيل الغذائي الثانوي للأحياء الدقيقة، معظمها ناتج من الفطريات والأكتينومييسيتات Actinomycetes، كان لها تأثيرات مثبطة لنشاط البكتيريا الضارة بصحة الإنسان.

ومن أمثلة المضادات الحيوية ذات الأصل الفطري والمستخدم في النواحي الطبية: البنسلين penicillin، والسيفالوسبورين cephalosporin، وحمض الفوسيديك fusidic acid، وجميع هذه المواد ذات تأثير مضادٍ لنشاط البكتيريا الملوثة للجروح.

وهناك مضادات حيوية أخرى تفرزها بعض الفطريات، وتعمل على تثبيط نمو فطرياتٍ أخرى antifungal agent؛ مثال ذلك المضاد الحيوي جريسيفولفين griseo-fulvin الذي ينتج كأحد نواتج التمثيل الغذائي الثانوي للفطر *Penicillium griseo-fulvum*، والفطر *P. nigricans*. ويستعمل هذا المضاد الحيوي لعلاج الأمراض الجلدية المتسببة عن الفطريات في الإنسان والحيوان.

ويعتبر إنتاج المضادات الحيوية من المنتجات المألوفة للتمثيل الغذائي الثانوي لكثير من الفطريات، والتي يصل عددها إلى نحو ألفي مضادٍ حيويٍّ معروفٍ حتى الآن. كما أن بعض هذه المنتجات المفزة من الفطريات ذات فوائد طبيةٍ لاحتصر لها؛ مثال ذلك قلويدات الأرجوت ergot alkaloides، ومشتقات الأستيرولات steroid derivatives،

والمواد المثبطة لتكوين الأورام antitumour agents، والمواد المنظمة للمناعة immuno-regulators.

(١) المضاد الحيوى بنسلين:

١- اكتشاف البنسلين:

احتفل العالم بمرور نحو ٦٠ عاماً على أول استخدام طبي ناجح للمضاد الحيوى بنسلين الذى تمت تنقيته جزئياً. ومنذ ذلك التاريخ أحدث هذا المضاد الحيوى الفريد ثورةً طبيةً عظيمة الأثر؛ جعلت فى الإمكان إضعاف تأثير البكتيريا الضارة التى تفتك بجسم الإنسان مسببةً أمراضاً خطيرة؛ مثل تعفن الدم septicaemia، والتهاب العظام osteomyelitis؛ حتى صارت هذه الأمراض الآن فى ذمة التاريخ.

كما وفر البنسلين ظروفًا جيدة لتطور علم الجراحة، ومهد الطريق لاكتشاف مزيد من المضادات الحيوية الأخرى؛ مثل سترپتومايسين streptomycin. ونظراً لزيادة الطلب على البنسلين كعقارٍ ناجحٍ لعلاج الجروح المتقيحة بفعل البكتيريا، فلقد أدى ذلك إلى تطور تقنية التخمرات، وساعد على تحسين أساليب الإنتاج الصناعى لنواتج التمثيل الغذائى للفطريات.

ليس هذا فحسب، بل إن ظهور البنسلين بتأثيره الساحر على دحر البكتيريا الممرضة للإنسان، جعل الفطريات محط اهتمام جميع الباحثين والدارسين، وأصبح علم الفطريات من العلوم التى يهتم بها العلماء من مختلف التخصصات؛ فزاد الاهتمام بدراسة تقسيم الفطريات، وفسيولوجيا نموها، وهندستها الوراثية؛ حتى أصبح فى الإمكان إنتاج سلالاتٍ محسنةٍ من الفطريات عظيمة القيمة الصناعية.

ولانتسى البشرية أن الفضل فى ذلك يرجع إلى العالم الإنجليزى «سير الكسندر فلمنج» (Fleming (1881-1955، الذى نال حظه من التقدير عام ١٩٤٥، بعد أن وضعت الحرب العالمية الثانية أوزارها، ونال جائزة نوبل للسلام فى العلوم الطبية؛ نظراً لاكتشافه ذلك المضاد الحيوى عام ١٩٢٨.

ففى أحد معامل البكتيريا بإنجلترا، وقف هذا العالم يدرس نمو أنواع من البكتيريا العنقودية النامية على بيئات غذائية فى الأطباق الزجاجية، ولكنه لاحظ وجود تلوث فى بعض هذه الأطباق؛ حيث تبعثرت على سطح البيئة نموات فطرية ذات حواف بيضاء، بينما تلون مركزها باللون الأخضر.

وربما انزعج «فلمنج» من هذا الفطر الدخيل، وفكر برهة فى التخلص من تلك الأطباق الزجاجية التى لوثها هذا الميكروب؛ فأفسد التجربة التى كان يجريها. ولكنها كانت لحظة مباركة، منحه الله فيها قوة الملاحظة؛ فقوى بصره، وأثار بصيرته، وعندما دقق «فلمنج» النظر فى هذه النموات المتداخلة بين البكتيريا والفطر الملوث، شاهد عجباً.

فلقد نمت مستعمرة الفطر فى شكل قرصي، تحيط بها منطقة خالية من أية نموات بكتيرية. وكانت هذه الهالة الشفافة التى تحيط بالفطر واضحة أشد الوضوح، ومتكررة فى جميع الأطباق الزجاجية التى وجد الفطر الملوث إليها سبيلاً.

وهنا اكتشف «فلمنج» أن هذا الفطر ينمو مؤثراً على نمو الخلايا البكتيرية العنقودية الممرضة للإنسان، والتى تفسد جروحها وتقيحها؛ فقام بعزل الفطر الملوث، وأعاد التجربة مرة أخرى، ثم مرات عديدة، حتى تيقن من أن هذا الفطر يفرز مواد ناتجة من تمثيله الغذائى فى البيئة التى ينمو فيها تعمل على قتل خلايا البكتيريا.

وعندما فحص هذا الفطر فحصاً مجهرياً، وجد أنه يتبع الجنس *Penicillium*؛ وهو من الفطريات الشائع وجودها فى التربة، والتى يحمل الهواء جراثيمها الدقيقة؛ لذا أطلق «فلمنج» على هذه المادة الفعالة القاتلة للبكتيريا اسم «بنسلين penicillin»؛ نسبة إلى ذلك الفطر الذى يفرزها.

وأعلن «فلمنج» عن اكتشافه الباهر عام ١٩٢٩؛ وذلك فى إحدى المجلات العلمية المتخصصة (Brit. J. Exptl. Pathol.)؛ والتى كانت تصدر فى لندن حينذاك. ثم استكمل «فلمنج» وزملاؤه دراساتهم على هذه المادة الساحرة - البنسلين - وعلى الفطر

الذى يفرزها، والذي تحدد نوعه -بعد ذلك- وعرف تحت اسم *P. notatum*. ولقد تميز ذلك المضاد الحيوى المكتشف بأنه مجموعة من المركبات الفعالة المؤثرة على جميع البكتيريا الموجبة لصبغة جرام. وهي تضم جميع البكتيريا الكروية بمختلف أشكالها؛ مثل السبحية، والعنقودية، والتي تسبب مشاكل صحية لاحصر لها للإنسان. كما أظهرت الأبحاث الأولية التي أجريت على هذا المضاد الحيوى بأنه قليل السمية للإنسان.

وشاركت الولايات المتحدة -بعد ذلك- فى الأبحاث الخاصة بإنتاج البنسلين وتنقيته، حيث استكمل الباحثان سير هوارد فلورى Sir H. Flory وإرنست شاين E. Shain مابداً «فلمنج»؛ وذلك فى معامل جامعة أكسفورد عام ١٩٤٠؛ حيث تمكنا من تنقية المادة الفعالة، ثم إنتاجها بعد ذلك بصورة تجارية.

وفى عام ١٩٤٤، نشر «فلمنج» بحثاً رائعاً عن إنجازاته العلمية فى مجال تطوير إنتاج واستخلاص ذلك المضاد الحيوى؛ وذلك بعنوان (البنسلين: ١٩٢٩-١٩٤٣) بالمجلة الطبية الإنجليزية، ثم تبعه كتاب بعنوان (البنسلين واستخداماته) عام ١٩٤٦، فى أعقاب حصوله على جائزة نوبل للسلام فى مجال البحوث الطبية.

وزاد اهتمام كثير من الباحثين بتطوير البنسلين، وخاصةً العالم البكتيرى «سلمان واكسمان Wachsman» الباحث بقسم الزراعة الأمريكى USAD؛ والذي نشر بحثاً بعنوان (التضادات الميكروبية والمواد المضادة للبكتيريا) وذلك عام ١٩٤٧. ومن الجدير بالذكر أن هذا العالم الفذ قد استمر فى أبحاثه واكتشف فى معمله - بعد ذلك- مضاداً حيوياً جديداً هو ستربتومايسين، وحصل على جائزة نوبل للسلام فى البحوث الطبية عام ١٩٥٢.

ومن تصاريף الأقدار، أنه فى نفس العام الذى حصل فيه عالم البكتيريا الإنجليزي «ألكسندر فلمنج» على جائزة نوبل للسلام فى مجال البحوث الطبية -عام ١٩٤٥- عن اكتشافه المضاد الحيوى بنسلين، حصل عالم الكيمياء الفنلندى فيرتانين

(1895-1973) A.I.Virtanen على نفس الجائزة، ولكن فى بحوث الكيمياء الحيوية؛ والتي شملت دراسة ميكروبات التربة، واستخدام بعضها فى التخمرات، وصناعة وتسوية الجبن.

ولقد استمرت الأبحاث فى مجال تطوير إنتاج البنسلين فى كلى من الولايات المتحدة وإنجلترا؛ حيث قام بعض العلماء بفصل هذا المضاد الحيوى بصورة نقيّة على صورة بلورات ثابتة قابلة للذوبان فى الماء، ثم تم - بعد ذلك - تحديد تركيبه الكيميائى بدقة.

كما أمكن الوصول إلى عزلات جديدة من الفطر المنتج لهذا العقار العجيب، تتميز بغزارة إنتاجها منه؛ مما كان له أكبر الأثر فى علاج جرحى القوات المحاربة خلال الحرب العالمية الثانية (١٩٣٩-١٩٤٥)، وأنقذت أرواح كثيرة منهم، أو -على الأقل- أنقذت أطرافهم من البتر.

ليس هذا فقط، بل كان البنسلين علاجاً شافياً لعددٍ من الأمراض الأخرى التى تسببها البكتيريا، والتى عانتها الإنسانية ردىاً طويلاً من الزمن؛ مثال ذلك مرض السل الرئوى، والسيلان، والزهرى، والدفتريا، والحمى المتقطعة.

ب- تطوير إنتاج البنسلين:

لقد صاحب تطوير إنتاج البنسلين تلك الطفرة الهائلة فى التقنيات الحيوية للمواد الناتجة من التمثيل الغذائى الثانوى من خلال التخمرات الفطرية الصناعية، خلال الحرب العالمية الثانية.

ففى ربيع عام ١٩٤١، نجحت التجارب الأولية التى أجريت على بعض الجرحى من الجنود بهذا العقار الساحر، إلا أن ذلك أظهر عجز الإنتاج المعملّى فى توفير الكميات اللازمة من البنسلين لعلاج الأعداد الكبيرة من جرحى الحرب؛ سواء من العسكريين، أم المدنيين.

وكانت أهم مشكلات إنتاج البنسلين وتنقيته هي استخدام المذيبات العضوية لاستخلاص البنسلين؛ فلقد تمكن «فلمنج» من إنتاج البنسلين في بيئة حساء اللحم النامي فيها الفطر *P. notatum*؛ وهذا ما فعله أيضاً مجموعة من باحثي جامعة أكسفورد بعد ذلك؛ حيث لاحظوا أن البنسلين يمكن استخلاصه من البيئة الغذائية؛ عن طريق إذابته في الإثير ether، ولكن عند تبخير الإثير فإنه يحمل البنسلين معه.

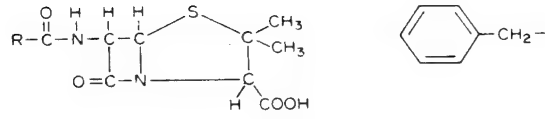
وكان حل هذه المشكلة على يد مجموعة بحثية برئاسة العالم Clutterbuck؛ حيث استطاعوا الحصول على البنسلين من الأثير المتبخّر عن طريق إمراره في محلول منظم حامضى التأثير. وهكذا نجح الفريق البحثي بجامعة أكسفورد في إنتاج مسحوق بنى اللون هو البنسلين النقي.

وكانت المشكلة الثانية التي قابلت هذا الفريق البحثي هي كيفية إنتاج أكبر كمية من البنسلين، تمكنهم من استكمال تجاربهم على حيوانات التجارب في المعمل، ثم علاج الحالات الحرجة من المصابين ذوى الجروح المتقيحة.

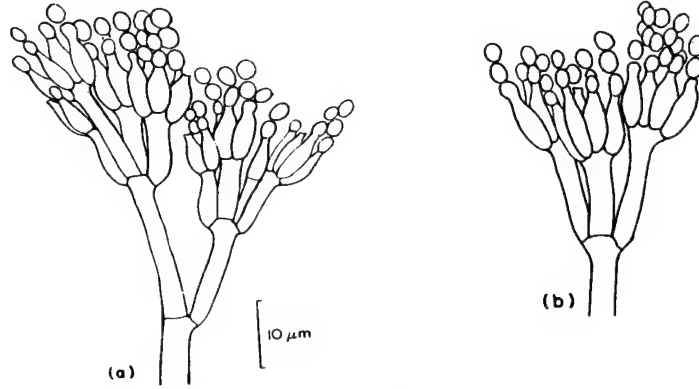
ولم يكن أمام هؤلاء الباحثين سوى استعمال أعداد كبيرة من الدوايق الزجاجية لإنماء الفطر والحصول على البنسلين، ولكن هذا كله لم ينتج سوى كميات ضئيلة من هذا المضاد الحيوى، وكان لابد من البحث عن أسلوب آخر للإنتاج.

ومع بداية عام ١٩٤٢، حدث تطور مفاجيء في التقنية الحيوية لإنتاج البنسلين؛ وذلك من خلال تطوير نظام الفصل المعتمد على الطرد المركزي؛ ففي هذا النظام، تم تطوير نظام متكامل لجهاز يتكون من حمام مائي وعدد من خضاضات اللبن -سعة الواحدة عشرة جالونات (نحو ٤٠ لتراً) - حيث تتصل جميعها بأنابيب، تدفع خلالها المحاليل باستعمال مضخة تشبه تلك الأنواع المستخدمة في رى الحدائق المنزلية.

وباتباع هذه التقنية الحيوية، أمكن لشركات صناعة الأدوية الإنجليزية إنتاج كميات كبيرة من البنسلين باستعمال طريقة التخمير السطحي -surface fermentation meth-، والتي تم تعديلها عن الطريقة المتبعة في الإنتاج التجارى لحمض الستريك.



شكل (١٥) التركيب الأساسي للمضاد الحيوي بنسلين؛ حيث يحتوي penicillin G على سلسلة جانبية (R).



شكل (١١٦) : الفطر *Penicillium chrysogenum*.

(a) - رأس نموذج ذو تفرع واحد. (b) - رأس بسيط غير متفرع.

ومع ذلك، فإن التطور الرئيسي في إنتاج البنسلين لم يتم تحقيقه في إنجلترا موطن اكتشافه، ولكن تم في الولايات المتحدة؛ فلقد عمل علماء الفطريات الصناعية الأمريكيون على إجراء تجارب بغرض اختيار طفرات لعزلات فطرية؛ لإنتاج أعلى

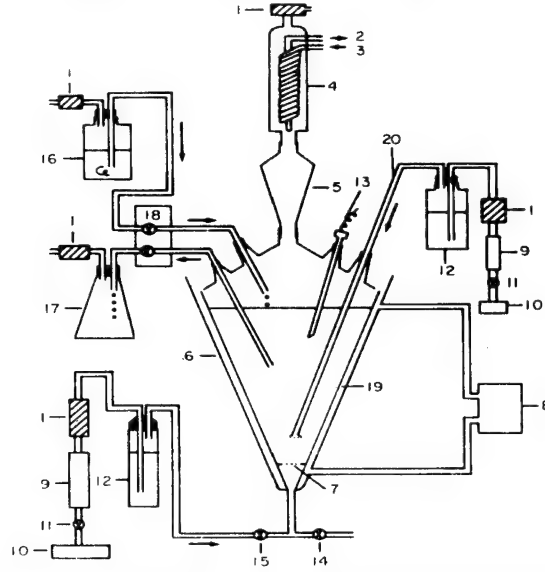
كمية من البنسلين، بالإضافة الى تطويرهم للبيئات الغذائية المستخدمة فى تنمية الفطر.

ولعل أهم مقام به العلماء الأمريكان فى هذا المجال، هو أقلمة السلالات الفطرية على النمو فى البيئات السائلة فيما يعرف باسم «التخمير العميق-deep fermentation»؛ مما عجل بتطوير إنتاج البنسلين تطويراً هائلاً؛ وذلك بإنتاج كميات كبيرة منه مع نهاية الحرب العالمية الثانية، مع تخفيض تكاليف إنتاجه.

وحتى ذلك الحين كان العلماء الإنجليز مازالوا مرتبطين بطريقتهم التقليدية فى إنتاج البنسلين -وهى طريقة التخمير السطحي- مما أدى إلى تأخير تحقيق طفرة فى إنتاجه التجارى. وفى ذلك الوقت كانت فسيولوجيا الفطريات فى بدايتها بالجامعات الإنجليزية، ولم تهتم شركات الأدوية -حينذاك- بتطوير إنتاجها من هذا المضاد الحيوى.

وهكذا كانت الولايات المتحدة رائدة فى مجال التخميرات الفطرية؛ مما سمح لها بتحقيق معجزة إنتاج البنسلين بطريقة تجارية؛ بينما لم تستطع إنجلترا تحقيق أى تقدم فى هذا المجال إلا مع بداية عام ١٩٤٧، عندما بدأوا فى اتباع أسلوب التخمير العميق فى إنتاج البنسلين.

ولقد أدى تطوير إنتاج البنسلين إلى زيادة الأبحاث التى تجرى على الفطريات بصفة عامة؛ سواء فى التطبيقات الصناعية، أم فى معامل البحوث بالجامعات فى شتى أنحاء العالم. ولم تكد تمر سنوات قليلة حتى ظهر مايسمى بـ «علم الفطريات التطبيقى» applied mycology، والذى يطلق عليه حالياً التقنية الحيوية للفطريات fungal bio-technology.



- شكل (١١٧): إنتاج البنسلين عن طريق التخمير المستمر continuous fermentation في وعاء تخمر مخروطي الشكل conical bubble fermentor.
- | | |
|------------------------------|--|
| ١ - مرشح هواء. | ١١ - صمام اختزالي reducing valve. |
| ٢ - خروج الماء البارد. | ١٢ - مرطب للهواء. |
| ٣ - دخول الماء البارد. | ١٣ - مقياس لرقم الحموضة. |
| ٤ - مكثف عاكس. | ١٤ - منفذ لخروج البيئة ولأخذ عينات منها. |
| ٥ - وعاء مانع لتكوين الرغاي. | ١٥ - صمام دخول الهواء. |
| ٦ - غلاف عازل للحرارة. | ١٦ - وعاء البيئة الغذائية. |
| ٧ - مرشح زجاجي. | ١٧ - دورق جمع الناتج النهائي. |
| ٨ - منظم حراري (ثيرموستات). | ١٨ - مضخة تموجية peristaltic pump. |
| ٩ - مقياس لتدفق الهواء. | ١٩ - وعاء المفاعل الحيوي. |
| ١٠ - مضخة غشائية. | ٢٠ - أنبوبة التهوية العليا. |

ولعلنا في العجالة السابقة، نشير إلى مولد هذه التقنية الحيوية للفطريات، والتي صادف مولدها دراسة جينات الفطريات وإعادة ترتيبها فيما يسمى بـ «الهندسة الوراثية»؛ مما أتاح لنا الفرصة لتطوير استخدام الفطريات في مجالات جديدة، أسهمت في حل عديد من مشاكلنا مع البيئة ومع الإنتاج الزراعي والصناعي، وما زالت إسهاماتها القادمة في رحمة المستقبل.

ج- الإنتاج التجاري للبنسلين:

يعتبر إنتاج الكحولات الصناعية والأحماض العضوية -وعلى رأسها حمض الستريك- من أهم المواد الناجمة من التمثيل الغذائي للفطريات من ناحية كمية الإنتاج العالمي، إلا أن إنتاج البنسلين يفوق ماسبق من نواحي التمثيل الغذائي؛ وذلك من ناحية أهميتها لصحة الإنسان، وإنقاذها لحياة الملايين.

ولقد سبقت الإشارة إلى دور العالم الإنجليزي فلمنج في اكتشافه لهذا المضاد الحيوي خلال العقد الثالث من هذا القرن، وكيف نجح العلماء الأمريكيون في تطوير الإنتاج التجاري للبنسلين؛ وذلك من خلال تطويرهم للسلاسل الفطرية، والوصول إلى سلالات ذات كفاءة عالية في إنتاجها، وما صاحب ذلك من اتباع تقنية التخمر العميق؛ لإنتاج كميات كبيرة من هذا المضاد الحيوي تكفي لعلاج جراح الإنسانية في جميع أنحاء العالم.

وتركزت بحوث تطوير إنتاج البنسلين في الولايات المتحدة في معمل بحوث الإقليم الشمالي Northern Regional Research Laboratory في مدينة Peoria بولاية Illinois. وفي هذا المعمل تحققت طفرة عظيمة في تقنية إنتاج البنسلين؛ حيث تم استخدام بعض المواد العضوية المتخلفة عن الصناعات الغذائية؛ مثل مخلفات صناعة النشا من الذرة corn-steep liquor؛ إذ أدى ذلك إلى زيادة إنتاج البنسلين من ١,٢ ميكروجرام إلى أكثر من ٢٤ ميكروجرام لكل مليلتر بيئة غذائية.

وأيضاً تم اكتشاف نوع جديد من الجنس *Penicillium* (*P. chrysogenum*) ينتج

كميات مضاعفة من البنسلين، قدرت بحوالى ٥٤٠ ميكروجرام لكل مليلتر بيئة غذائية؛ حيث عُولت هذه السلالة من ثمرة كنتالوب مصابة بالعفن بعد تعريضها للأشعة فوق البنفسجية.

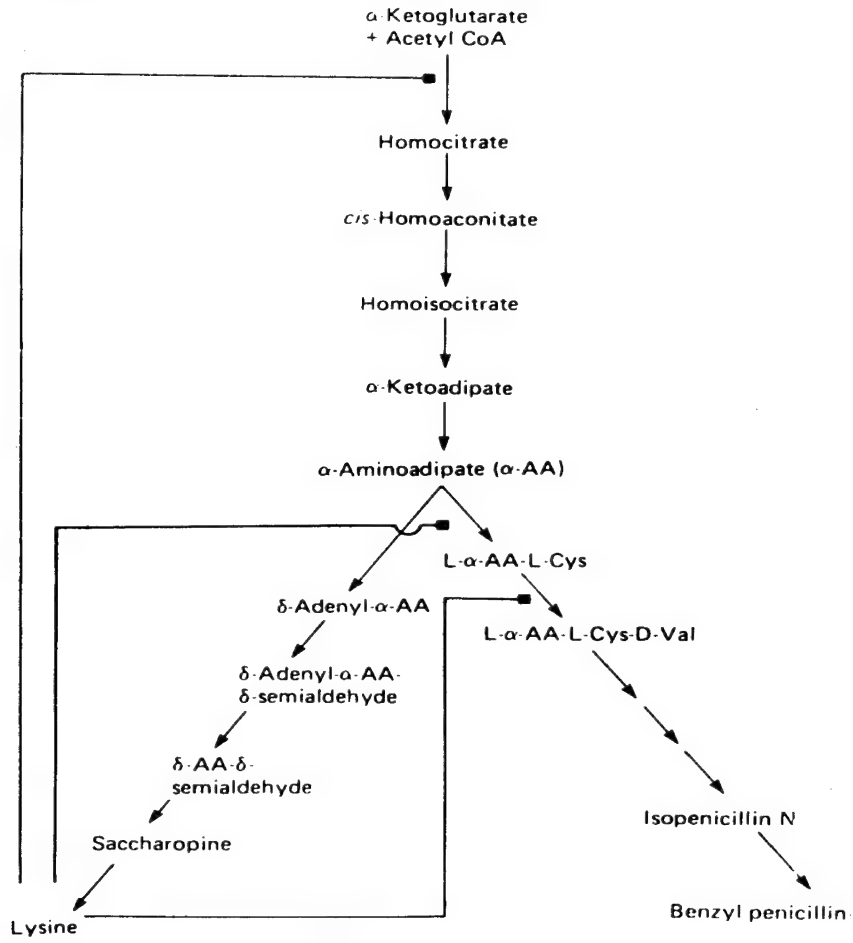
ويعتبر إنتاج البنسلين أول صناعة يتداخل فيها تطوير سلالة الفطر وتقنية التخمر فى وقت واحد؛ مما أدى إلى التقدم الكبير فى الإنتاج. ومازال العلماء يبحثون عن وسائل لتطوير سلالات الفطر المستخدمة؛ وذلك لتطوير إنتاج البنسلين حتى يصل إلى معدلات أعلى من المعدلات الحالية.

وعلى أية حال، فإن الإنتاج العالمى الحالى من البنسلين يكفى احتياجات العالم منه، حيث إن المتوسط العام للكمية المتاحة من الإنتاج السنوى توفر حوالى خمسة جرامات لكل فرد.

وهناك أنواع مختلفة من المضاد الحيوى بنسلين يمكن إنتاجها خلال مرحلة التخمر، يجمعها كلها تركيب عام مشترك، ولكنها تختلف بعضها عن بعض فى طبيعة السلسلة الجانبية. ويميز تركيب البنسلين وجود أربع حلقات أميد - four-membered amide rings، يطلق عليها « β -lactam ring»، متحدة مع خمس حلقات ثيازوليدين thiazolidine، وسلسلة جانبية من الأكريل أمينو acrylamino side-chain.

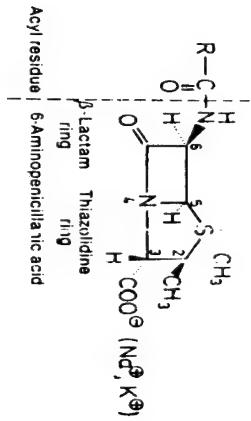
وعلى ذلك، فإن رابطة السلسلة الأميدية الجانبية ثابتة كيميائياً، ولكن يمكن تحليلها مائياً؛ حيث ينتج عن ذلك حمض ٦ أمينو بنسيلانيك 6-aminopenicillanic acid (6-APA)، وهو مركب وسطى عظيم الأهمية.

وهناك مركبات جديدة نصف مخلقة semisynthetic compounds أنتجت بنسلين ج، penicillin G (benzylpenicillin)؛ وذلك عن طريق إدخال سلاسل جانبية جديدة.



شكل (١١٨) : خطوات التخليق الحيوي للبنسلين، ونقاط التنظيم الحيوي بواسطة الحمض الأميني

ليسين Lysine.



BIO-SYNTHETIC PENICILLINS	
Benzylpenicillin (Pen. G) acid stable, β -lactamase sensitive, no activity against Gram-negative bacteria	
Phenoxymethylpenicillin (Penicillin V) acid stable, other properties like penicillin G	
Allylmercaptomethylpenicillin (Penicillin O) reduced allergenic properties	

Designation	N-acyl residue R	
NATURAL PENICILLINS		
Benzylpenicillin (Penicillin G)		
2-Penamylpenicillin (Penicillin F)	$CH_3-CH_2-CH=CH-CH_2-CO-$	
n-Amylpenicillin (Penicillin-Dihydro F)	$CH_3(CH_2)_4-CO-$	
n-Heptylpenicillin (Penicillin K)	$CH_3(CH_2)_6-CO-$	
p-Hydroxybenzylpenicillin (Penicillin X)		
Penicillin N (Synovectin B) (O-4-Amino-4-carboxy-n-butylpenicillin)	$HO_2C-CH-(CH_2)_3-CO-$	
Isopenicillin N (1,4-Amino-4-carboxy-n-butylpenicillin)	$HO_2C-CH-(CH_2)_3-CO-$	
Methylpenicillin	CH_3-CO-	
SEMI-SYNTHETIC PENICILLINS		
Prodicillin acid stable, β -lactamase sensitive		
Methicillin acid stable, β -lactamase resistant		
Oxacillin acid stable, β -lactamase resistant		
Ampicillin broadened spectrum of activity especially against Gram-negative bacteria, β -lactamase sensitive		
Carbenicillin broadened spectrum of activity especially against Pseudomonas aeruginosa, acid stable but ineffective orally, β -lactamase sensitive		

شكل (١١٩) : التركيب الكيميائي لبعض مركبات البنسلين الطبيعية والتخليقية والصنف تخليقية.

ويوجد التركيب β -lactam في مجموعة المضاد الحيوى «سيفالوسبورينات cephalosporins»، وكان أول هذه المركبات هو ذلك الذى تم الحصول عليه طبيعياً من بعض الأنواع الفطرية التابعة للجنس *Cephalosporium* -والذى يعرف حالياً بالجنس *Acremonium* - حيث تم عزله لأول مرة من مصب مياه الصرف الصحى فى جزيرة سردينيا Sardinia.

ويلاحظ فى مركبات السيفالوسبورينات أن الحلقات الأربع من β -lactam تتحد بعضها مع بعض مكونة ست حلقات غير مشبعة من مركب dihydrothiazine. ويعيب البنسلين الطبيعى سهولة تحليله فى المعدة إذا تم تناوله عن طريق الفم؛ وذلك نظراً لتركيبه الذى يشبه الأحماض الأمينية السريعة الهضم؛ مما يجعله يفقد فاعليته بسرعة بمجرد وصوله إلى المعدة.

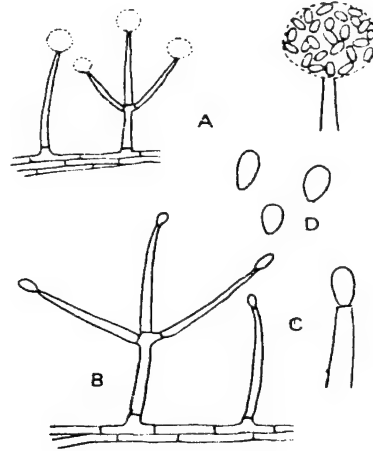
شكل (١٢٠) : الفطر *Cephalosporium*.

A - حوامل كونيدية وكونيديات متجمعة

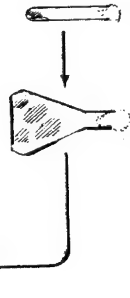
فى قطرة لزجة على قمة الحامل.

B، C - قارورات phialides.

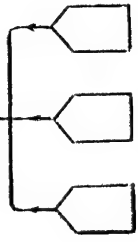
D - كونيديات.



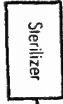
8 Preparation of inoculum



Media ingredients

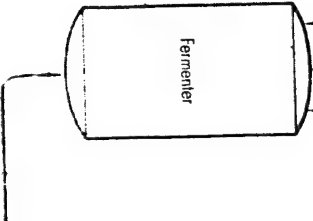


Mixing tank

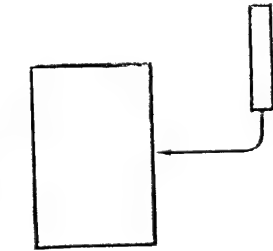


A Preparation of medium

Fermenter



C The fermentation



D Recovery of penicillin

شكل (١٢١) : رسم تخطيطي لمرحلة الرئيسية لإنتاج البنسلين.

(A): Preparation of medium تجهيز البيئة الغذائية

حيث تستعمل مخلفات صناعة النشا من الذرة: **corn-steep liquor**، واللاكتوز، والأملاح المعدنية، وغير ذلك من مكونات؛ تخلط بعضها ببعض، وتعقم، ثم تترك لتبرد، ويتم ضخها في وعاء التخمر.

(B): Preparation of inoculum إعداد اللقاح الأولي (الباديء)

يستعمل الفطر *Penicillium chrysogenum*؛ حيث تنقل النموات الفطرية من المزرعة النقية على الآجار المائل إلى دورق زجاجي يحتوي على ردة مبللة ومعقمة. وبعد استكمال نمو الفطر على الردة، يتم تكوين معلق للجراثيم، وينقل إلى وعاء يحتوي على بيئة معقمة يطلق عليه اسم «bazooka»، يستعمل بعد ذلك لتلقيح وعاء التخمر التجاري العملاق.

(C): Fermentation مرحلة التخمر

يحتوي وعاء التخمر الكبير على البيئة السابق تجهيزها، ثم يلقيح بالبيئة السابق إعدادها في المرحلة السابقة التي ينمو فيها الفطر، ثم يدفع هواء معقم في وعاء التخمر خلال مرحلة التخمر.

(D): Recovery of penicillin المرحلة الرابعة: الحصول على البنسلين

بعد الوصول إلى أقصى كمية ممكنة من المضاد الحيوي بنسلين تم تكوينها بفعل الفطر، تزال النموات الفطرية عن طريق الترشيح، ثم يُستخلص البنسلين في صورة نقية عن طريق سلسلة متتابعة من عمليات الاستخلاص، تشمل الترسيب، وإعادة الإذابة، والترشيح، وغير ذلك.

كما أن ذلك البنسلين الطبيعي حساس لفعل إنزيم penicillinase الذى تنتجه بعض أنواع البكتيريا المقاومة لفعل البنسلين penicillin-resistant bacteria ؛ مما يقلل من تأثيره، بالإضافة إلى فاعليته المحدودة للبكتيريا السالبة لصبغة جرام.

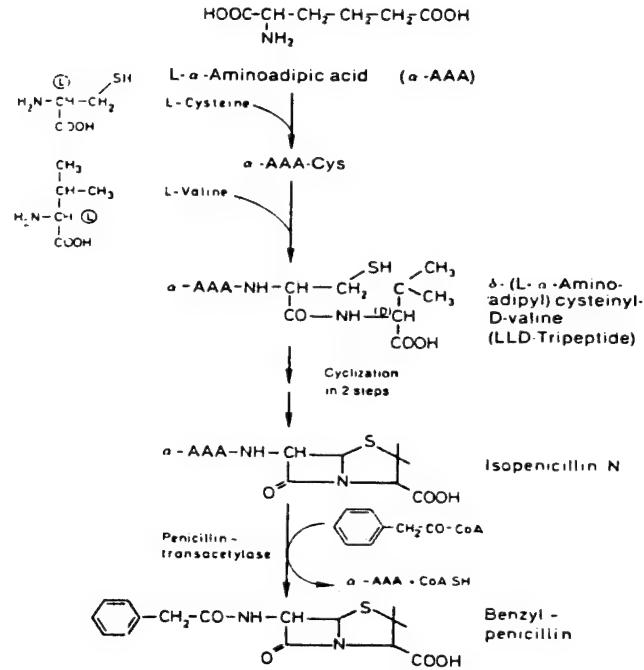
وعند إضافة حمض فينوكسى الخليك phenoxyacetic acid إلى بيئة محلول التخمر التى ينمو فيها الفطر *P. chrysogenum*، فإن ذلك ينتج منه تكوين بنسلين ف penicillin V وتركيبه phenoxymethyl penicillin. ويتميز هذا النوع من البنسلين بثباته فى الوسط الحامضى؛ لذا فهو أول مضاد حيوي بنسليني يستخدم عن طريق الفم.

وعند تشبييع السلاسل الجانبية للمركبات الوسطية المستخدمة فى بيئة التخمر، فإن الفطر *P. chrysogenum* ينتج كمية ضئيلة من مركب ٦ أمينو حمض البنسلين (6-APA)، ولكن من السهولة إنتاج مركب بنزيل البنسلين benzylpenicillin صناعياً، وبعد ذلك يتم تحليل المركب للحصول على ٦ أمينو حمض البنسلين.

ويمكن إضافة عديد من السلاسل الجانبية إلى المركب السابق (6-APA) بطريقة كيميائية؛ وذلك لإنتاج مركبات بنسلين مخلقة صناعياً synthetic penicillins؛ تتميز بمقاومتها لفعل إنزيم الهدم penicillinase الذى تفرزه بعض أنواع البكتيريا، وكذلك بقدرتها على تثبيط البكتيريا السالبة لصبغة جرام.

د- إنتاج بنزيل البنسلين:

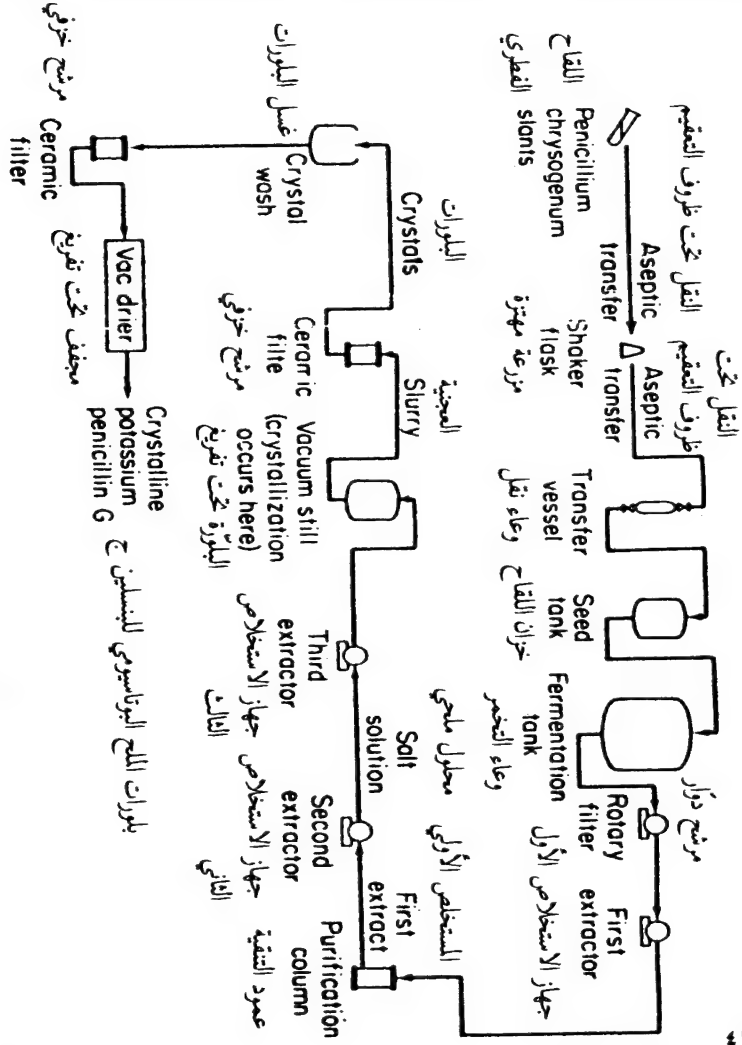
يتم إنتاج هذا المركب بإنماء الفطر *P. chrysogenum* على بيئة غذائية تحتوى على مصدر كربوني مناسب وعوامل نمو growth factors، بالإضافة إلى الأملاح المعدنية الضرورية. ويعتبر الجلوكوز المصدر الكربوني المناسب لتشجيع نمو الفطر وإنتاج كتلة حيوية biomass production، بالإضافة إلى إنتاج كمية كبيرة من البنسلين.



شكل (١٢٢) : التخليق الحيوي للبنسلين بواسطة الفطر *Penicillium chrysogenum*.

ولقد استخدم مخلوط من سكر اللاكتوز والجلوكوز كمصدر كربوني لإنماء الفطر السابق؛ حيث أدى ذلك إلى إنتاج كتلة حيوية هائلة من نموات الفطر، بينما لم يؤد استخدام اللاكتوز منفرداً إلى نتائج جيدة. وحيث إن سكر اللاكتوز مرتفع الثمن، فلقد تم تطوير إنتاج البنسلين عن طريق خفض كمية سكر الجلوكوز المستخدمة في المرحلة الثانية من مراحل الإنتاج؛ حيث يقلل ذلك من تكوين نموات الفطر، ويدفعه إلى التمثيل الغذائي الثانوي منتجاً المضاد الحيوي بنسلين.

ومازالت المخلفات السائلة الناتجة من صناعة نشا الذرة corn-steep liquor هي المصدر الرئيسي للبيئات المستخدمة في عملية التخمير لإنتاج البنسلين؛ نظراً لاحتواء



شكل (١٢٣) : مراحل الإنتاج التجاري للبنسلين.

هذه المخلفات السائلة على بعض المواد الأولية precursors التي يخلق منها البنسلين؛ مثال ذلك المواد الناتجة من التمثيل الحيوى للحمض الأميني فينيل ألانين phenylalanine؛ والذي يدمج في سلسلة الفينيل أسيتيل phenylacetyl لتخليق بنزيل البنسيلين benzylpenicillin

وتعتمد بعض المصانع الحديثة لإنتاج البنسلين إلى إضافة حمض فينيل أسيتيك phenylacetic acid كمادة إضافية لبيئة التخمير، وقد يضاف أحد مشتقات هذه المادة بكميات محدودة؛ وذلك خلال المراحل الأخيرة من مراحل التخمير. ويجب أن يؤخذ في الحسبان عدم زيادة الكمية المضافة من حمض الفينيل أسيتيك إلى بيئة التخمير؛ نظراً لتأثيرها السام على الفطر في تركيزاتها العالية.

وبمجرد أن يتم إنتاج البنسلين، تزال الكتلة الحيوية biomass من نموات الفطر؛ وذلك عن طريق ترشيحها من خلال مرشح غشائيّ دوار يعمل بالتفريغ rotary vacuum filter drum. وبعد الحصول على المحلول المترشح يترك فترة ليبرد، ويخفض رقم حموضته.

ويتم استخلاص البنسلين المتكون من المحلول السابق بسرعة؛ وذلك باستخدام مذيب عضويّ مثل methyl isobutyl ketone، ثم يستخلص البنسلين عن طريق إضافة ملح بيكربونات الصوديوم المائي aqueous sodium bicarbonate، وبعد ذلك يزال ملح الصوديوم الناتج عن طريق التجفيف بالرشاد spray drying.

وتؤثر بعض العوامل البيئية المختلفة على إنتاج البنسلين؛ مثال ذلك رقم الحموضة، ودرجة الحرارة، والتهوية، وغير ذلك من عوامل مختلفة؛ فعلى سبيل المثال يعتبر رقم حموضة 6.8-7.7 ملائماً لإنتاج البنسلين، ولكن ذلك يتوقف على نوع سلالة الفطر المستخدمة.

وكذلك الحال في درجات الحرارة؛ حيث يناسب إنتاج البنسلين -كأحد نواتج التمثيل الغذائي الثانوي للفطر المستخدم -درجة حرارة ٢٥-٢٧°م، وهذه الدرجة

تناسب معظم سلالات الفطر العالية الإنتاج والتي تستخدم صناعياً على نطاق واسع. وعادة ما يستخدم موتور كهربائي قوته ٦٠٠ كيلووات؛ لتقليب وعاء التخمر الذي تتراوح سعته بين عشرة آلاف لتر وعشرين ألف لتر من البيقة المستخدمة في التخمر.

وللحصول على مركب ٦ أمينو حمض البنسيليك (6-APA) - الذي يستخدم لإنتاج أنواع مختلفة من مركبات البنسلين - تتم معالجة المحلول المحتوي على ١٥٪ من بنزيل بنسلين بإنزيم penicillinacylase، وهو إنزيم بكتيري تنتجه البكتيريا *E.coli*.

٢- المضادات الحيوية سيفالوسبورينات:

تتميز بعض السلالات الفطرية التابعة للجنس *Cephalosporium (Acremonium)* بإنتاجها خليطاً من المضادات الحيوية التي تعرف باسم «سيفالوسبورينات cephalosporins».

ويعتبر مركب سيفالوسبورين N cephalosporin N الذي يعرف باسم أديسيلين ad-icillin - مشتقاً من المركب ٦ أمينو حمض البنسيليك (6-APA)؛ ولذا فهو بنسلين، بينما سيفالوسبورين P cephalosporin P عبارة عن مضاد حيويّ مشابه للستيرويد steroid-like antibiotic، ويتم تخليقه كما هو موضح في الشكل (١٢٤).

ويعتبر مركب سيفالوسبورين (س) cephalosporin C هو المركب الأصلي parent compound لجميع المضادات الحيوية التي تعرف باسم «السيفالوسبورينات». ويمكن إزالة السلسلة الجانبية α -aminoadipyl side-chain بواسطة التحليل المائي - مع أخذ الاحتياطات اللازمة - حيث ينتج من ذلك حمض ٧ أمينو سيفالوسبورانيك 7-aminoccephalosporanic acid (7-ACA). ويمكن تحويل هذا المركب إلى عديد من المشتقات المختلفة ذات السلاسل الجانبية المتباينة.

ويعتبر المركب 7-ACA قريب الصلة بدرجة كبيرة بالبنسلينات، إلا أنه ليس حساساً لفعل إنزيم التحليل penicillinase. وعلى الرغم من ذلك يمكن تحليله مائياً بواسطة مجموعة أخرى من الإنزيمات المحللة يطلق عليها اسم «cephalosporinases».

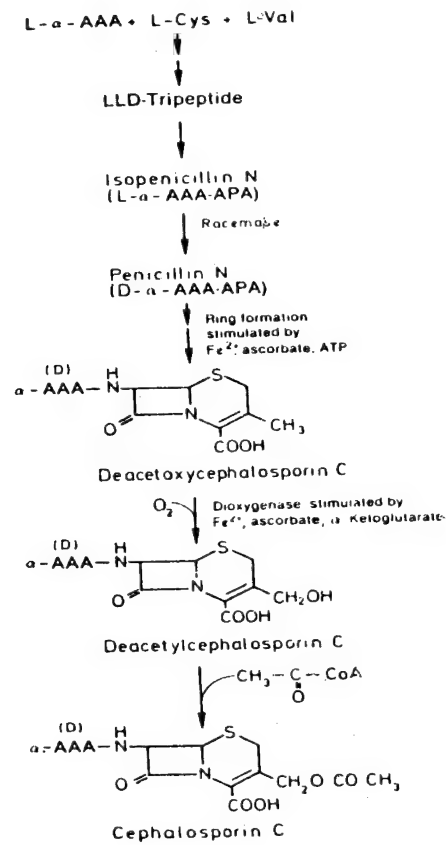
ولا يستعمل المركب سيفالوسبورين (س) الموجود في الطبيعة كمضاد حيوي، ومع ذلك فإنه يستخدم في إنتاج حمض ٧ أمينو سيفالوسبورائيك (7-ACA)؛ الذي تعاد إضافة مجاميع الأسيل reacylated إليه بواسطة سلاسل جانبية متنوعة؛ وذلك لإنتاج أنواع السيفالوسبورينات المخلقة synthetic cephalosporins ذات القيمة الاقتصادية العالية.

ويتميز السيفالوسبورين بسميته المنخفضة low toxicity، وتأثيره الواسع على العديد من الكائنات الحية الدقيقة بالمقارنة بالأمبسلين. ويمثل إنتاج السيفالوسبورين ٢٩٪ من جملة الإنتاج العالمي للمضادات الحيوية، حيث يوجد حوالي ٣٠ نوعاً من مشتقات السيفالوسبورينات ذات الاستخدامات الطبية.

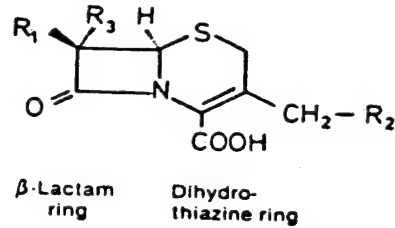
وكما هي الحال في البنسلين، فالسيفالوسبورينات يتم إنتاجها بواسطة المزارع الفطرية المنماة على دفعات متزايدة fed batch culture؛ وذلك بإنماء الفطر على المحلول المتخلف عن صناعة نشا الذرة. ويضاف للمحلول السابق مستخلص اللحم وسكروز وخلات أمونيوم.

وتتم - عادة - إضافة مكونات البيئة السابقة بتركيزات متزايدة، ويضبط رقم الحموضة عند ٦-٧، ودرجة الحرارة عند ٢٤-٢٨°C. ويجب مراعاة احتياج الفطر *Cephalosporium* إلى تركيزات عالية من الأكسجين أثناء نموه، بينما تقل احتياجاته للأكسجين عند إنتاجه للسيفالوسبورينات.

ويتم التحكم في إنتاج هذه المضادات الحيوية وذلك بالفوسفات، أو عن طريق مصدر النتروجين أو مصدر الكربوهيدرات، حيث لوحظ أن استخدام الجلوكوز والمالتوز والجلسرول يعمل على خفض إنتاج الفطر للسيفالوسبورينات. بعكس الحال عند إضافة حمض الفا أمينو ادبييك (α -amino adelic acid (α -AAA) والميثيونين، اللذين يعملان على زيادة إنتاج الفطر لهذه المضادات الحيوية.



شكل (١٢٤): مراحل التخليق الحيوي للمضاد الحيوي
 سيفالوسبورين (س) من الحمض ألفا-أمينو-أديبيك (O α -AAA).



Designation	R ₁	R ₂	R ₃
7-Aminocephalosporanic acid (7-ACA)	-NH ₂	-O-CO-CH ₃	-H
NATURAL CEPHALOSPORINS			
Cephalosporin C	-CO (CH ₂) ₃	-O-CO-CH ₃	-H
Deacetyl-3'-carbamoyl-cephalosporin C	(D) CH-NH ₂ COO ⁻	-O-CO-NH ₂	-H
7-Methoxy-cephalosporin C		-O-CO-CH ₃	-OCH ₃
Cephameycin A		-OCO-C-CH ₂ -	-OCH ₃
Cephameycin B		-OCO-C-CH ₂ -	-OCH ₃
Cephameycin C		-O-CO-NH ₂	-OCH ₃
SEMI-SYNTHETIC CEPHALOSPORINS			
Cephalexin		-O-CO-CH ₃	-H
Cephalexin		H	-H

شكل (١٧٥): تركيب المضاد الحيوي سيفالوسبورين (س) والسيفاميسينات cephamycins وبعض السيفالوسبورينات النصف تخليقية semi-synthetic cephalosporins.

٣- المضاد الحيوى جريسوفولفين Griseofulvin :

يعتبر الجريسوفولفين المضاد الحيوى الوحيد المؤثر على الفطريات ذا الاستعمال الطبى؛ والذى ينتج عن طريق الفطريات؛ حيث ينتجه الفطر *Penicillium griseofulvum (P.urticae)*. وهو المضاد الحيوى الوحيد الذى يحتوى تركيبه الكيميائى على حلقة عطرية.

ويقوم هذا المضاد الحيوى بتثبيط إنبات الجراثيم الفطرية ونمو هيفاته؛ لذا فتأثيره الرئيسى تثبيطى fungistatic أكثر منه قاتلاً للفطريات fungicidal. ونظراً لانخفاض سمية هذا المضاد الحيوى وقابليته للتراكم فى الجلد والشعر والأظافر عقب تناوله عن طريق الفم، فإنه يستعمل فى علاج الأمراض الفطرية التى تصيب الجلد سطحياً - superficial dermatophytoses؛ مثل ذلك مرض القوباء الحلقية ringworm، والقرع favus؛ وهى أمراض جلدية معدية.

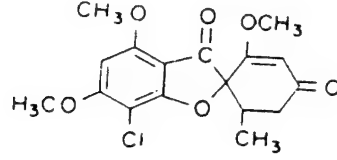
ويتم إنتاج الجريسوفولفين باستعمال بيئة تحتوى على سكر اللاكتوز، والخلفات السائلة لصناعة النشا من الذرة corn-steep liquor، وملح كربونات الكالسيوم، وملح فوسفات البوتاسيوم ثنائى الهيدروجين potassium dihydrogen phosphate؛ حيث تتم حماية ذرة الكلور عن طريق إضافة ملح كلوريد البوتاسيوم ونترات الصوديوم كمصدر للتتروجين.

ويصل إنتاج هذا المضاد الحيوى إلى حوالى ١,٥ جراماً لكل لتر من البيئة الغذائية المستعملة فى إنماء الفطر؛ وذلك بعد سبعة أيام من التحضين على حرارة ٢٥°م. ويمكن الحصول على الجريسوفولفين مباشرة من بيئة النمو؛ وذلك عن طريق استعمال مذيات، ثم ينقى ويحول إلى بلورات.

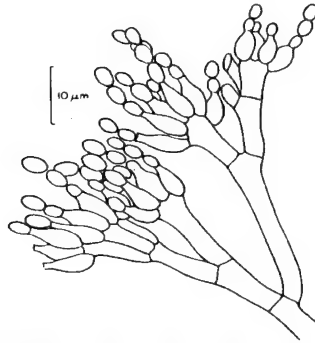
٤- المضادات الحيوية فيوسيدانات Fusidanes :

يعتبر حمض الفيوسيديك fusidic acid وحمض الهيلفوليك helvolic acid والسيفالوسبورين (ب) cephalosporin P مضادات حيوية ذات تركيب بنائى يعتمد

على هيكل الفيوسيدان fusidane skeleton. ولا يستخدم من هذه المضادات الحيوية السابقة سوى حمض الفيوسيديك في العلاج؛ نظراً لتأثيره على البكتيريا الموجبة لصبغة جرام - خاصة البكتيريا العنقودية المقاومة للبنسلين penicillin-resistant staphylococci - وذلك عند تناوله عن طريق الفم.



شكل (١٢٦) : التركيب الكيميائي للمضاد الحيوي جريسوفولفين.



شكل (١٢٧) : حامل ورأس نموذجي للفطر *Penicillium griseofulvum*.

ولقد عزل حمض الفيوسيديك لأول مرة من الفطر *Fusidium coccineum*، إلا أنه تم الحصول عليه بعد ذلك من فطريات عديدة أخرى؛ كعزله من الفطر *Mucor ramannianus* تحت اسم راميسين ramycin، وأيضاً من بعض الأنواع التابعة لجنس *Cephalosporium*.

وحديثاً أمكن الحصول على حمض الفيوسيديك من الفطر البازيدي *Isaria kon-gana*. ويؤثر هذا المضاد الحيوى على عمليات نقل الريبوسومات أثناء تخليق البروتين فى خلايا الكائنات الحية ذات النواة الحقيقية؛ والكائنات بدائية النواة.

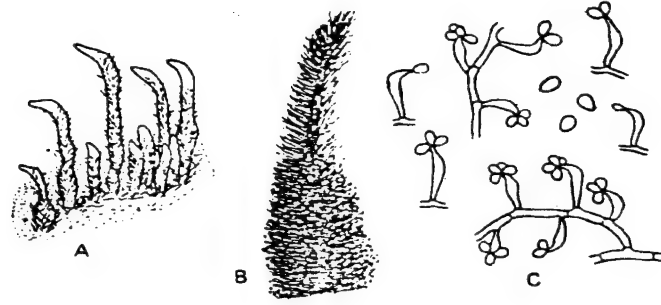
وهناك مضاد حيوى آخر ذو هيكل من الفيوسيدان، هو حمض الهيلفوليك *hel-volic acid*، يُتم إنتاجه عن طريق عددٍ من الفطريات؛ منها الفطر *Aspergillus fumigatus*، والفطر *Cephalosporium caeruleum*.

٥- مضادات حيوية أخرى:

تنتج الفطريات مدى واسعاً من المركبات ذات التأثير المضاد لنمو الفطريات الأخرى أو البكتيريا *antifungal or antibacterial activity*، إلا أن هناك عدداً قليلاً من هذه المركبات أمكن استعمالها فى النواحي الطبية.

وكثير من هذه المركبات -مثل مركب أووسبورين *oosporein*- ذات تأثير سام *mycotoxin*، ولها عديد من الصفات المفيدة الأخرى؛ حيث يستخدم بعضها كمبيد للحشائش الضارة *herbicide*، أو كمادة قاتلة للبروتوزوا *antiprotozoal activity*.

وبعض المضادات الحيوية المنتجة بواسطة الفطريات يكون لها استعمالات طبية محدودة، مثال ذلك المضاد الحيوى بسيلوسين *pecilocin* -والذى يعرف باسم فاربوتين *variotin*- حيث ينتجه الفطر *Paecilomyces variotii* والمضاد الحيوى فيوماجيلين *fumagillin*؛ الذى ينتجه الفطر *Aspergillus fumigatus*، والمضاد الحيوى سيسكانين *Siccanin*؛ الذى ينتجه بعض أنواع الفطر *Helminthosporium*.

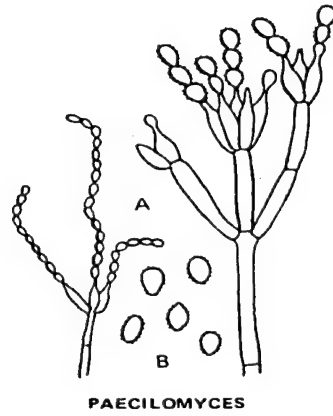


شكل (١٢٨) : الفطر *Isaria kongana*.

- A - ضفائر كونيدية synnemata تنمو تجاه مصدر الضوء.
B - جزء من الثمرة الكونيدية.
C - حوامل كونيدية وكونيديات.

شكل (١٢٩) : الفطر *Paecilomyces variotii*.

- A - حوامل كونيدية تحمل سلاسل من الكونيديات.
B - كونيديات.



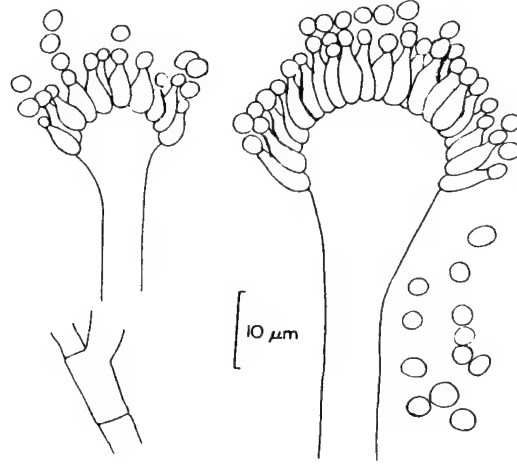
ثانياً: المواد المضادة للأورام وللفيروسات:

أحدثت المضادات الحيوية ذات التأثير الفعال على الفطريات والبكتيريا الممرضة للإنسان ثورةً في مفهوم الطب الحديث، ومع ذلك فما زالت البشرية تعاني أمراضاً عديدة، وفي مسيس الحاجة إلى علاج لمعظم أمراض السرطان، وأيضاً إلى مواد مضادة للفيروسات؛ بحيث تكون فعالةً وغير سامة للإنسان.

ولقد أكد مرض فقدان المناعة المكتسبة -acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) أهمية استمرار الأبحاث الخاصة بالمواد الفعالة المضادة للفيروسات -ef- . fective antiviral agents

ولقد تم عزل حوالي ٣٠٠ عامل مضاد للتورم antitumour agent من الأحياء الدقيقة؛ منها أكثر من ثلاثة أرباعها أمكن الحصول عليها من الاكتينومايسيتات، و١١٪ من البكتيريا و١٣٪ من الفطريات.

ومن ٤٣ عاملاً مضاداً للتورم تم الحصول عليه من الفطريات، وجد أن ٢٣ عاملاً تم الحصول عليها من الفطريات الناقصة Deuteromycetes، و ١٥ عاملاً من الفطريات البازيدية Basidiomycetes، وخمسة عوامل من الفطريات الأسكية Ascomycetes. وفي حصر آخر حديث، ظهر أن عدد العوامل المضادة للتورمات ٢٢٠ عاملاً، بينما كان هناك ٤٢ عاملاً مضاداً للفيروسات أمكن الحصول عليها من الفطريات.

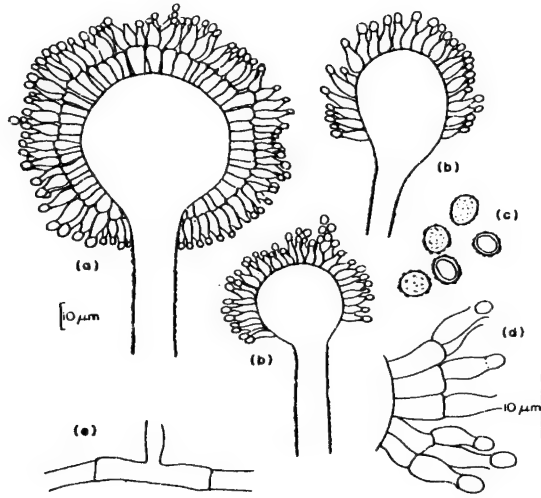


شكل (١٣٠) : الفطر *Aspergillus fumigatus*.

رءوس كونيدية conidial heads ، وكونيديات ، وخلية القدم .

إن بعض المواد السامة ذات المنشأ الفطري (التوكسينات الفطرية mycotoxins)؛ مثل الأفلاتوكسين ب_١ aflatoxin B_١ -الذى ينتج بواسطة الفطر *Aspergillus fla-* *vus*، والفطر *A.parasiticus* - تعتبر ذات تأثير مسرطن carcinogenic، لكنها -فى الوقت نفسه- ذات تأثير محدود لإيقاف نشاط تكوين بعض الأورام weak antitumor effects .

وتنتج بعض التوكسينات الفطرية -مثل الستريجماتوستينات sterigmatocystins- بواسطة الفطر *A. versicolor*؛ وهذا التوكسين ذو تأثير مسرطن، ولكنه أقل سمية من الأفلاتوكسينات، وله تأثير قوى مثبط لمرض ليوكيميا ابيضاض الدم (سرطان الدم) المنقول للفئران transplanted mouse leukaemias .



شكل (١٣١) : الفطر *Aspergillus flavus*.

- (a) : رأس كونيدى تحمل فريعات metulae وقارورات phialides .
 (b) : رأس كونيدى تحمل قارورات مباشرة .
 (c) : كونيدات . (d) فريعات metulae مكبرة تحمل قارورات .
 (e) : خلية القدم .

وهناك توكسينات فطرية أخرى معزولة من بعض أنواع الفطر *Myrothecium* تتميز بتأثيرها القوى المضاد للفطريات، كما أنها تثبط نمو مختلف الأورام الخبيثة التي تنشأ في الأنسجة الضامة sarcomas في الفئران. وكذلك تفرز بعض أنواع الفطر *Fusarium* مركباً يطلق عليه اسم «أنجويدين anguidine»؛ وهو فعال ضد مرض

لوكيميا الأورام الليفية فى الفئران -leu-lymphatic mouse tumour transplantable
.kaemia

كما ينتج فطر الخميرة *Candida albicans* معقداً من الجليكوبروتين خارج الخلية
extracellular glycoprotein complex؛ يعمل على تثبيط الأورام السرطانية التى
تنشأ فى النسيج الضام solid sarcoma-180 tumours.

وقد أثبتت أعداد لاحتصر لها من نواتج التمثيل الغذائى للفطريات فاعليةً محدودةً
فى تثبيط تكوين الأورام الخبيثة. ويمكن الإشارة إلى مركب الفيوماجيلين -fumagil-
lin الذى ينتجه الفطر *Aspergillus fumigatus*، والذى يعمل على تثبيط الأورام
السرطانية transplanted sarcoma-180 فى الفئران، وكذلك مركبات trihydroxy
tetralones؛ الذى ينتجها الفطر *Penicillium divarticulum*؛ وهى سامة للخلايا
المصابة بسرطان يوشيدا Yoshida sarcoma cells.

وتنتج فطريات الخميرة -كالأنواع التابعة للجنس *Rhodotorula* - إنزيم -pheny-
alanine ammonia lyase؛ وهو فعال ضد الفيروس المسبب لمرض سرطان الدم فى
الفئران mouse leukaemia virus؛ وذلك عند اختباره؛ سواء تحت ظروف المعمل
in vitro، أم على الفئران الحية.

وتعتبر الفطريات البازيدية والأسكية المصدر الرئيسى للمواد المضادة للأورام؛ حيث إن
بعض هذه المواد عبارة عن سكرياتٍ معقدةٍ polysaccharides منتجةٍ من بعض
الفطريات؛ مثل فطر عيش الغراب الثقبى *Coriolus consors*، وفطر *C. versicolor*.
ويظهر معقد البروتين والمعقدة polysaccharide protein complex الناتج
من مثل هذه الفطريات تأثيراً فعالاً ضد بعض الأورام السرطانية؛ مثال ذلك Ehrlich
carcinoma، و sarcoma-180 فى الفئران، كما أن هذا المعقد قليل السمية.
وكذلك الحال فى مادة الشيزوفيلان Schizophyllan التى يكونها فطر عيش غراب

القبة المروحية *Schizophyllum commune*؛ حيث أظهرت الأبحاث الحديثة قدرتها على تثبيط عديد من الأورام السرطانية.

ولقد لاحظ بعض الباحثين في اليابان عام ١٩٦٩ تأثيراً مضاداً للأورام -antitumor activity- للسكريات المعقدة الناتجة من فطر عيش غراب الشيتاكي *Lentinus edodes*، وهو من أكثر فطريات عيش الغراب المألوفة في كلٍّ من الصين واليابان؛ حيث أطلق على هذه السكريات المعقدة اسم لينتينان *lentinan*.

ويتكون اللينتينان من سكرٍ معقدٍ متعادل *neutral polysaccharide*، بالإضافة إلى جلوكان *B(1,3)-D-glucan* ذي تفرع من النوع *B(1,6)*. ويعتبر هذا المركب الناتج عن طريق الفطريات من أكثر السكريات المعقدة المضادة للأورام من حيث فاعليته في تثبيط الأورام الخبيثة؛ حيث حظى بدراساتٍ عديدةٍ متنوعة.

ويستعمل اللينتينان في معالجة أمراض سرطانات المعدة المتكررة -recurrent stomach cancers-، كما يظهر هذا المركب نشاطاً مضاداً للهستامين -antihistamine activity-؛ مما يجعله فعالاً في معالجة أمراض الحساسية مثل مرض حمى القش -hay fever-.

وهناك فطريات أخرى تستعمل في الطب الشعبي الصيني تتميز بفاعليتها في تثبيط بعض أمراض السرطان، كما هي الحال في فطر عيش الغراب الرفي *Ganoderma lucidum*، وفطر *Tremella fuciformis*، وفطر *Poria cocos*، وفطر *Cordyceps ophioglossoides*.

ولقد عُرِلَت عديد من المركبات ذات التأثير المضاد لتكوين الأورام السرطانية من فطر عيش الغراب المحارى *Pleurotus ostreatus*. ولا يقتصر وجود هذه المركبات على الفطريات البازيدية، ولكن ثبت وجودها -أيضاً- في بعض الفطريات الأسكية؛ مثال ذلك الفطر *Sclerotinia gluconicum*؛ حيث ينتج هذا الفطر مادة سكليروجلوكان *scleroglucan*، وتعتبر هذه المادة واحدةً من أكثر السكريات المعقدة المضادة لتكوين الأورام التي تم اكتشافها حتى الآن.

وتوجد مجموعة من المواد الثانوية الناتجة من التمثيل الغذائي للفطريات *funga* secondary metabolites؛ يطلق عليها اسم epipolythiodioxopiperazines؛ وهي تشمل مركبات؛ مثل: الجليوتوكسين gliotoxin، والكيتومين chaetomin؛ حيث تثبط هذه المركبات تضاعف الحمض النووي RNA الفيروسي؛ سواء في المعمل، أم في الكائن الحي.

وقد أثبتت المركبات السابقة فاعلية في مزارع الأنسجة ضد الفيروسات المسببة للأمراض الرئيسية للإنسان؛ مثال ذلك فيروس شلل الأطفال poliovirus، وفيروس coxsackievirus، بالإضافة إلى عديد من فيروسات الإنفلونزا.

ومن ناحية أخرى، أظهر المركب فيونيكولوسين funiculosin المعزول من متخلف ترشيح البيئة النامي عليها الفطر *Penicillium funiculosum* فاعلية شديدة على تثبيط الأحماض النووية الفيروسية RNA، DNA، بينما كان المركب الناتج من نمو فطر *A. niger* -والذي أطلق عليه (FWH-755)- فعالاً ضد فيروسات الإنفلونزا، وفيروس جدري البقر vaccinia في المعمل.

وربما يكون من الواضح من الدراسات السابقة أن المركبات التي تنتجها بعض الفطريات يكون لها تأثير فعال مضاد للأورام، وضد الإصابة بالفيروسات؛ وذلك تحت ظروف النظم المعملية laboratory model systems. إلا أن مثل هذه المركبات لم يعتمد عليها بعد في النواحي الطبية التطبيقية؛ سواء لعلاج أمراض السرطان، أم الأمراض الناتجة من الفيروسات.

ثالثاً: المواد المنظمة للمناعة immunoregulators:

لقد مضى نحو نصف قرنٍ منذ أن تم -لأول مرة- نقل أعضاء للإنسان بدلاً من نظيرها التالف. ولكي يتم ذلك بنجاح، كان من الضروري البحث عن وسائل تمنع رفض الجسم الطبيعي recipient's immune response للعضو الجديد المراد نقله، وإلا أدت هذه العملية إلى الفشل التام.

وفيما مضى، اتبع الأطباء حقن المريض بالعقاقير؛ للتأثير في رفض الجسم للعضو الغريب؛ مثال ذلك azathioprine، و corticosteroides، إلا أن هذه العقاقير كان لها تأثير جانبي سيء، يتفاوت من شخصٍ إلى آخر؛ مما جعل نجاح مثل هذه العمليات لا يتجاوز النصف.

١ - السيكلوسبورين cyclosporin:

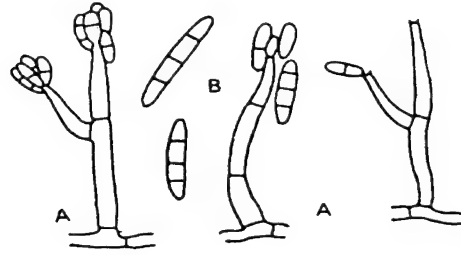
يعتبر المركب الفطري سيكلوسبورين أول مركبٍ ناتجٍ من التمثيل الغذائي الثانوي للكائنات الحية الدقيقة يمكن استخدامه طبيًا للتحكم في نمو ووظيفة الخلايا العادية في الحيوانات الثديية.

ولقد اكتشف هذا المركب وتم تطويره في معهد ساندوز Sandoz للبحوث الطبية بسويسرا؛ حيث أُنتج تجارياً تحت اسم SANDIMMUN. وأدى ظهور هذا المركب إلى زيادة فرصة نجاح عمليات نقل الأعضاء البشرية؛ حيث بلغ عدد من استفاد منه خلال عام ١٩٩٦ نحو ٢٠٠ ألف مريضٍ، تم نقل أعضاء إليهم دون مشاكل؛ بالاستعانة بهذا المركب.

وتعود قصة اكتشاف السيكلوسبورين إلى عام ١٩٥٨ عندما اهتم معهد ساندوز

ببرنامج بحثي متطور يهدف إلى دراسة المضادات الحيوية الفعالة ضد الفطريات antifungal antibiotics؛ حيث شكلت مجموعات بحثية من علماء قاموا برحلات علمية لجمع عينات من التربة من شتى أنحاء العالم؛ لعزل واختبار الأحياء الدقيقة الموجودة بها.

وفي عام ١٩٧٠، تم عزل بعض فطريات التربة من عينة تم الحصول عليها من ولاية Wisconsin الأمريكية، وكان من هذه الفطريات الفطر *Cylindrocarpon lucidum*، وأيضاً عزل الفطر *Tolypocladium inflatum* من النرويج، بالإضافة إلى عزله من الفطر *Trichoderma polysporum*، وكانت هذه العزلة الأخيرة موجودة لدى الفريق البحثي للمقارنة.



شكل (١٣٢) : الفطر *Cylindrocarpon lucidum*.

A - حوامل كونيدية تحمل كونيديات . B - كونيديات .

وعند دراسة مسارات التمثيل الغذائي الثانوي لهذه الفطريات، وجدت بعض نواتج التمثيل الغذائي المتعادلة المحبة للدهون neutral lipophilic metabolites، وعند دراستها اتضح أنها ببتيدات معقدة حلقيّة غير قطبيّة non-polar cyclic polypep-، ذات فاعليّة مضادة لنمو الفطريات antifungal activity.

ولقد اختبرت الفطريات السابقة؛ وذلك من ناحية إنمائها على البيئات السائلة؛ حيث أثبتت التجارب إمكانية نمو الفطر *T.inflatum* بسهولة على مثل هذه البيئات؛ لذا استعمل بعد ذلك في إنتاج السيكلوسبورينات على نطاق تجاري واسع. ولقد وجد أن السيكلوسبورينات لا يكونها الفطر في بيئة النمو، بل يحتفظ بها داخل هيفاته؛ لذا يجب استخلاص الميسليوم للحصول على هذه المواد الفعالة.

ولقد بدأ العالم Borel (1983) دراسة النشاط المخفض للمناعة-immuno suppressive activity لهذا المركب. ولم يلاحظ على هذا المركب أى تأثير على خلايا الأورام tumour cells فى القفزان، ولا على مرض سرطان الدم leukaemia فى القفزان. وتدلل هذه النتائج على أن خفض مناعة الجسم لارتبط بإبطاء نشاط الخلايا وانقسامها cytostatic activity.

كما أوضحت الدراسات السابقة أن مادة السيكلوسبورين ذات تأثير مثبط على انقسام الكريات الليمفاوية lymphocytes بطريقة اختيارية، دون أن تثبط انقسام الخلايا الجسدية الأخرى. ولقد أدى ذلك إلى خفض مناعة الأجسام المضادة ومناعة الخلايا الوسطية antibody-and cell-mediated immunity.

وقد توالى الدراسات بعد ذلك على مختلف المركبات التابعة للسيكلوسبورينات؛ حيث أوضحت النتائج أن المركبين رقم ٢٤ ورقم ٥٦٦ لهما تأثير فى مناعة الجسم الطبيعية، وأطلق عليهما سيكلوسبورين A وسيكلوسبورين B على الترتيب، إلا أن المركب الأول (A) كان أكثر فاعلية.

وكانت الكميات التى يتم الحصول عليها من السيكلوسبورينات قليلة للغاية؛ نظراً لإنتاجها تحت ظروف المعمل، وظل الأمر هكذا حتى عام ١٩٧٣؛ حيث كانت عمليات نقل الأعضاء البشرية فى بدايتها، ولكن الأبحاث استمرت - فى ذلك الوقت - على فئران التجارب.

وأظهرت النتائج أن السيكلوسبورين A و B ذو تأثير علاجي لتصلب أنسجة فئران

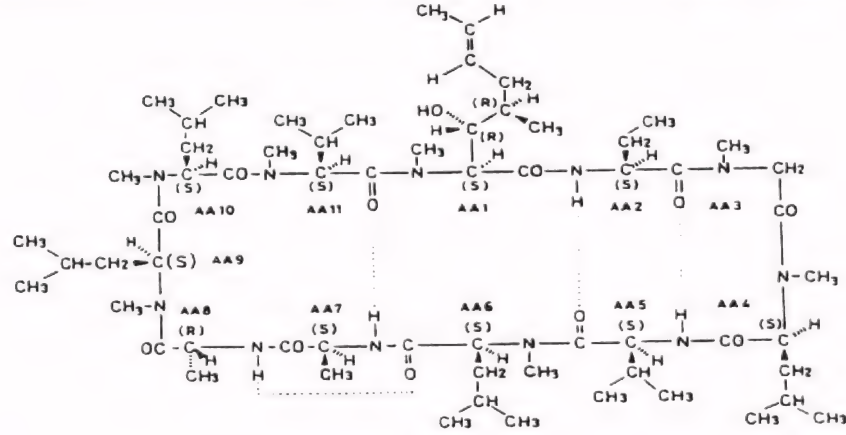
التجارب، وهذا يوضح إمكانية استخدام هذا المركب في تحسين حالة المرضى المصابين بالتهاب المفاصل (الروماتويد) rheumatoid arthritis .

ولقد شارك معهد ساندوز للأبحاث الطبية بمدينة برن بسويسرا في هذه الأبحاث الجارية على السيكلوسبورينات؛ حيث وجد العالم Gubler أن هذا العقار له تأثير جيد في علاج الروماتويد، بالإضافة إلى قدرته على خفض مناعة الجسم في عمليات نقل الأعضاء immunosuppressive properties in the transplantation model .

وفي عام ١٩٧٦ نشرت مجموعة من الباحثين -منهم Petscher، و Kuhn و Lichti- بحثاً عن تركيب السيكلوسبورينات، وأوضحت نتائجهم أن هذه المركبات عبارة عن ببتيدات حلقيّة cyclopeptides . وكان كل مركب من تلك المركبات يحتوى على أحد عشر حمضاً أمينياً متشابهاً، عدا حمض أميني واحدٍ مختلفٍ.



شكل (١٣٣): صورة بالمجهر الإلكتروني للفطر *Tolypocladium inflatum* تظهر بها الحوامل الكونيدية والقارورات والكونيديات (الصورة مكبرة ٥٠٠٠ مرة) .



شكل (١٣٤) : تركيب السيكلوسبورين .cyclosporin

(Wenger, 1983 عن)

وعلى ذلك وجد في المركب سيكلوسبورين A أن الحمض الأميني المختلف هو ألفا أمينو حمض البيوتيريك *alpha aminobutyric acid*، في حين أنه في سيكلوسبورين B كان الحمض الأميني المختلف هو ألانين *alanine*.

ويُنتج الفطر *Tolypocladium inflatum* عديداً من السيكلوسبورينات، يحتوي كل منها على أحد عشر حمضاً أمينياً، منها حمض واحد مختلف. ويبلغ عدد مركبات السيكلوسبورين الطبيعية خمسة وعشرين مركباً مختلفاً، إلا أنه أمكن تخليق نحو ٧٥٠ من هذه المركبات بطريقة صناعية وذلك عام ١٩٨٩، غير أن جميع هذه المركبات المخلقة لم يظهر لها أي تأثير طبي بالمقارنة بالسيكلوسبورين A.

ويعرف السيكلوسبورين A حالياً بالاسم التجاري «CYCLOSPORINE». ويتميز هذا العقار بعدم ذوبانه في الماء، ولكن يمكن تناوله عن طريق الفم في محلولٍ يحتوي

على مذيبي عضوي أو دهني. وتعتمد فاعلية هذا العقار في تقليل مناعة الجسم لنقل الأعضاء على منع فاعلية الأجسام المضادة والمناعة غير المباشرة للخلايا cell-mediated immunity.

وتظهر فاعلية السيكلوسبورين A في تثبيط تنشيط استجابة خلايا T-cells، وخاصة خلايا T.helper cells. ويستعمل هذا العقار في تثبيط الرفض المناعي أثناء عمليات نقل نخاع العظام في الإنسان، بالإضافة إلى نقل الكبد والبنكرياس. وتقوم شركة ساندوز بتسويق السيكلوسبورين A؛ حيث أثبت أنه عقار مأمون، وأن تأثيراته الجانبية محدودة؛ منها زيادة شعر الجسم، وإحساس المريض برعشة تسرى في جسمه، وقد يؤثر على الكلى. بينما لا يؤثر على نخاع العظام.

ولقد كانت جميع العقاقير السابقة التي كانت تستعمل لتثبيط الرفض المناعي للجسم -مثل azathioprine- تعمل عن طريق تثبيط الانقسام غير المباشر (الميتوزي) في جميع خلايا الجسم؛ مما أدى إلى تدهور تلك النظم الجسدية ذات الخلايا السريعة التحول؛ مثل نخاع العظام والخلايا المبطنة للقناة الهضمية؛ مما سبب أنيميا حادة وإسهالاً لمن يتعاطى مثل هذا العقار.

وعندما اختبر السيكلوسبورين على خلايا الطحال وخلايا الثدي -بالمقارنة مع غيره من العقاقير الأخرى السابقة- أظهرت النتائج أن تأثير السيكلوسبورين متخصص على خلايا الطحال الليمفاوية lymphoid spleen cells؛ حيث كانت فاعليته عليها أكثر ثلاثمائة ضعف من تأثيرها على خلايا الثدي غير الليمفاوية non-lymphoid masto-cytoma cells.

كما أظهر السيكلوسبورين أنه غير ضار على خلايا نخاع العظام وخلايا النخاع الشوكي، بعكس العقارين azathioprine وmethotrexate السابق استخدامهما في عمليات نقل الأعضاء؛ حيث سببا تأثيرات سيئة على خلايا النخاع الشوكي.

٢- الجليوتوكسين Gliotoxin :

ينتج هذا المركب كأحد نواتج التمثيل الغذائي الثانوية secondary metabolite لعددٍ من الفطريات؛ مثل الفطر *Aspergillus fumigatus*؛ حيث يتبع هذا المركب مجموعة epipolythiodioxopiperazines (ETPs). وتتميز المركبات التابعة لهذه المجموعة بأن تركيبها يتضمن حلقةً ثنائية الكبريت bridged disulphide ring؛ مما يعطيها صفاتٍ مضادةً للحياة وللعمل كمثبطات مناعية -antibiotic and immuno-toxic properties.

ولقد عرف التأثير المضاد للحياة للجليوتوكسين منذ زمنٍ بعيدٍ، وعلى الرغم من ذلك لم يكن ذا قيمةٍ تطبيقيةٍ طبيةٍ. ويمكن القول إن هذا المركب أحد النواتج الثانوية للتمثيل الغذائي للفطريات التي لاقت إهمالاً لفترةٍ طويلةٍ مضت، إلا أنه أُعيد تقييمه؛ حيث يعتبر الآن أحد العقاقير الحديثة الباعثة للحياة new lease of life؛ حيث جذب اهتمام الباحثين؛ نظراً لفاعليته الطبية في زيادة نشاط الإنسان، واستعادة صحته، وإزالة القلق الناتج عن مشاكل الحياة اليومية.

ولقد اهتم عدد من الباحثين بهذا المركب، وكان على رأسهم الباحثان Waring & Mullbacher (1990)؛ فقد اهتموا بنوع من خلايا الدم البيضاء يسمى الملتهمات العملاقة (macrophages) big eaters؛ حيث تقوم هذه الخلايا بالتهام الجهاز المناعي immune system الذي يبتلع الجزيئات غير المرغوبة مثل البكتيريا. وتشمل هذه العملية التصاق تلك الخلايا الملتهمة بالجزيئات الغريبة وأيضاً بسطح الطبقة البترية الذي تنمو عليه.

وخلال الدراسات السابقة تلوثت مزارع الخلايا الملتهمة بأحد الفطريات؛ مما أدى إلى عدم التصاق تلك الخلايا النامية بسطح الطبقة البترية؛ وهذا يحدث -عادةً- عندما تموت مثل هذه الخلايا، ولكن الخلايا كانت لا تزال حيةً، غير أن الفطر الملوث للمزرعة عمل على منع التصاق الخلايا، وأيضاً عمل على فقدانها القدرة على الالتصاق.

ولقد تم فصل وتنقية هذا المركب، وعرف بأنه جليوتوكسين gliotoxin؛ حيث إنه ينتج بواسطة أحد فطريات العفن؛ وهو *A.fumigatus*. ولقد درست صفات المركب gliotoxin؛ فوجد أنه يمنع خلايا المناعة immune cells من الانقسام؛ وذلك عندما تحث بواسطة بعض الكيماويات المستخدمة في محاكاة الانتيجينات؛ والتي يطلق عليها mitogens.

ويبدو من صفات الجليوتوكسين أنه توكسين المناعة immunotoxin، وهو مركب يقلل من الجهاز المناعي immune system في جسم الإنسان؛ ونتيجة لذلك فإن الجليوتوكسين -شأنه في ذلك شأن السيكلوسبورين- يمكن أن يستخدم في جراحة نقل الأعضاء، أو في زراعة نخاع العظام.

ولقد لعبت الصدفة دوراً كبيراً في اكتشاف هذه الصفات ذات الأهمية الفائقة للجليوتوكسين، وكذلك الحال في كشف النقاب عن خصائص السيكلوسبورين؛ ولعل ذلك يرجع إلى تجارب «لويس باستير» العلمية؛ التي جعلت الأذهان مستعدة ومؤهلة لاستقبال واستيعاب دور الأحياء الدقيقة في حياة الإنسانية.

رابعاً: قلويدات الأرجوت: Ergot alkaloids

١- لمحة تاريخية:

خلال العصور الوسطى انتشرت عديد من الأوبئة المرضية كان أهمها مرضاً أطلق عليه اسم «الحمى الرهيبة Holy Fire»، أو حمى «القديس أنطونيوس St. Anthony's Fire»، وفي ذلك الوقت لم يعرف سبب هذا المرض؛ لذا نسب إلى غضب الرب وإنزاله اللعنة على البشر المخطئين، واعتقد العامة أن الصلاة من خلال القديس أنطونيوس تمكنهم من الشفاء.

والقديس أنطونيوس St. Anthony -والذى يسمى القديس أنطونيوس المصرى Saint Anthony of Egypt (250-355?)- ناسك مصرى يعتبر أبا الرهبانيات فى التاريخ المسيحى، ومكث فترةً فى مدينة Dauphine الفرنسية. ولقد شاعت أخبار معجزاته فى علاج المصابين بهذا المرض القاتل، حتى أطلق اسمه على هذا المرض (Dickinson & Lucas, 1983).

ولم يكتشف دورة حياة الفطر إلا فى منتصف القرن التاسع عشر بواسطة العالم Tu-lasne (1853)، ولكنه لم يعرف علاقة الأجسام الحجرية بحدوث التسمم، الذى شاع انتشاره فى فرنسا وألمانيا بدرجة كبيرة بالمقارنة بدول غرب أوروبا الأخرى، حيث كان انتشاره هناك محدوداً.

وكم عانى الأهالى فى فرنسا من هذا المرض، ففي عام ٩٤٤ ميلادية مات نحو أربعين ألف شخص من ذلك المرض، واستمرت المعاناة من انتشار المرض حتى عام

١٩٥١، حيث أصيب حوالي ٢٠٠ شخص في مدينة Pont Saint Exprit بالتسمم الأرجوتي، مات منهم خمسة أفراد.



شكل (١٣٥): رسم للقديس أنطونيوس المصري يرجع تاريخها إلى القرن السادس عشر الميلادي، يظهر بها أحد المصابين بمرض التسمم الأرجوتي يرفع يده الملتهبة يناشد القديس المساعدة.

ولقد ارتبط ظهور هذا المرض بالخبز الذى يتم إعداده من حبوب الشيلم الملوثة بالأجسام الحجرية السوداء لفطر الأرجوت (*Claviceps purpurea*). وهذه الأجسام الحجرية تقضى فترة الشتاء على سنابل الشيلم. وهناك فطريات أخرى قريبة الصلة من هذا الفطر تكون مثل هذه الأجسام الحجرية الفتاكة.

ويصيب هذا الفطر مبيض الأزهار المتكونة؛ فلا تكون حبوباً، ولكن يتكون بدلاً منها أجسام حجرية. وعندما يحل فصل الربيع ويعتدل الجو، تنبت هذه الأجسام الحجرية مكونة حشيات ثمرية لحمية تحمل أجساماً ثمرية أسكية قارورية الشكل. وتعتبر الأجسام الحجرية -والتي يطلق عليها اسم أرجوتات- سامة؛ نظراً لاحتوائها على أنواع مختلفة من القلويدات السامة *poisonous alkaloides*.

وعندما يتغذى إنسان أو حيوان على هذه الأرجوتات بكمية كبيرة -كما يحدث فى حالة طحن هذه الأرجوتات مع الحبوب الملوثة بها- فإن الدقيق الناتج الذى يستخدم فى صناعة الخبز يكون ساماً، وينتج عن تناوله تسمم أرجوتى يعرف باسم «Ergotism».

وتظهر الأعراض الناتجة عن هذا التسمم على الأدميين فى صورة تشنجات شديدة وآلام غير محتملة، وفقد الأطراف الناتج عن موت الأنسجة وحدوث غرغرينا. وقد يعانى المريض فقدان الشعور واختلاط العقل، والهلوسة، والصرع، كما يحدث لإجهاض للسيدات الحوامل، وقد تؤدي مثل هذه الأعراض إلى الموت.

كما عانى المصابين بهذا التسمم من التهابات حادة فى أطرافهم، وارتفاع حرارة هذه الأطراف لدرجة تبخر الماء المسكوب عليها من شدة الحرارة. كما يتآكل لحم هذه الأطراف، ويصبح لونها داكناً، وبعد ذلك تموت وتتساقط.

ولقد غير التسمم الأرجوتى مسار التاريخ فى أكثر من حادثة؛ ففي القرن الثامن عشر فشل قيصر روسيا بطرس الأكبر (1672-1725) Peter the Great -الذى جعل روسيا دولةً أوروبيةً ذات شأنٍ عظيمٍ، وأسسَ مدينةَ بطرس بروج (ليننجراد حالياً)- فى أن يستولى على بعض المدن الساحلية على شاطئ البحر الأسود عام ١٧٢٢؛ وذلك

بسبب تغذية جنوده على خبز ملوث بالأجسام الحجرية لفطر الأرجوت، كما تغذت خيولهم على علف ملوث.

وظهر التسمم الأرجوتي في بعض الدول النامية ولكن بدرجات محدودة؛ كما حدث في أثيوبيا نتيجة تناول خبز مصنوع من حبوب شعير ملوثة بالأجسام الحجرية لفطر الأرجوت، وأيضاً في الهند عندما تناول الأهالي هناك حبوب ميليت ملوثة بهذه الأرجونات القاتلة.

وكان آخر انتشار وبائي للتسمم الأرجوتي ما حدث خلال عامي ١٩٢٦-١٩٢٧؛ وذلك بسبب مجاعة اجتاحت الأهالي بالانحداد السوفيتي؛ فتغذوا على حبوب نباتات برية كانت مصابة بهذا الفطر ذى الأجسام الحجرية السامة.

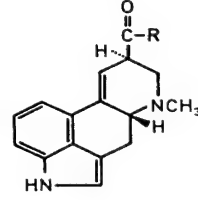
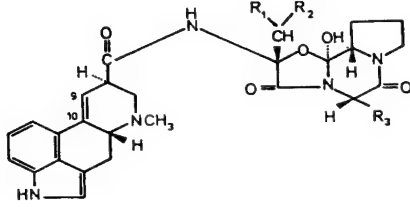
ومن السهولة بمكان التعرف على تلك الأجسام الحجرية الكبيرة الحجم وسط حبوب النجيليات الملوثة بها. ومن الممكن التخلص من هذه الأجسام واستبعادها قبل طحن الحبوب. ولكن هذا لا يحدث للحيوانات التي تتغذى على ما يقدمه الإنسان لها من علف؛ فإذا ماتناول حيوان ما مثل هذا العلف الملوث بالأجسام الحجرية، فإن جهازه العصبي يتأثر بشدة، وقد يصاب بغرغرينا.

ويظهر على الخيول والأغنام تشنجات وتقلصات عضلية، يتبعها شلل. وقد يكون مصدر هذه الأجسام الحجرية رعى الحيوانات في مناطق عشبية، بها حشائش برية لنباتات نجيلية مصابة بمرض الأرجوت.

ويرجع أسباب التسمم الأرجوتي إلى وجود قلويدات الإرجومتريين -ergometri-nine وإرجوتامين ergotamine وإرجوتامينين ergotaminine. وعلى الرغم من سمية هذه المركبات عند تناولها بتركيز مرتفع، إلا أن التركيزات المنخفضة منها ذات تأثيرات علاجية عظيمة.

ويرجع تاريخ استخدام قلويدات الأرجوت في النواحي الطبية إلى عام ١٥٨٢؛ حيث استخدمت خلال عملية الولادة؛ وذلك للإسراع من انقباض الرحم.

ويعتبر التأثير الرئيسى لهذه القلويدات تأثيراً مهدئاً $\text{sympathetic effect}$ فى المقام الأول؛ وذلك نتيجة لتثبيط إفراز الهرمونات: أدرينالين adrenaline ، ونور أدرينالين noradrenaline ، وسكليروتين sclerotin ؛ مما يؤدي إلى تحدد الأوعية الدموية؛ فينخفض ضغط الدم.



Name	R ₁	R ₂	R ₃
Ergotamine	H	H	CH ₂ -
Ergosine	H	H	CH ₂ CH(CH ₃) ₂
Ergocristine	CH ₃	CH ₃	CH ₂ -
α - Ergocryptine	CH ₃	CH ₃	CH ₂ CH(CH ₃) ₂
β - Ergocryptine	CH ₃	CH ₃	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃
Ergocornine	CH ₃	CH ₃	CH(CH ₃) ₂
Ergostine	H	CH ₃	CH ₂ -

Name	R
Ergometrine (Ergobasine)	
α -Hydroxyethyl- lysergamide	
Lysergic acid	- OH
$\Delta^{8,9}$ -Lysergic acid *	-OH

شكل (١٣٧): قلويدات الأرجوت الموجودة طبيعياً من النوع الببتيدي (الأرجوبيبتينات er-go-peptins).

شكل (١٣٦): تركيب بعض القلويدات البسيطة المشتقة من حمض الليسرجيك lysergic acid .
(-x) رابطة مزدوجة عند الوضع دلتا ٨-٩)

كما تؤثر هذه القلويدات على العضلات الملساء؛ موقفة عمل الجهاز العصبي السمبثاوى sympathetic nervous system؛ ولهذا فإن هذه المركبات تستخدم لحث الرحم على الانقباض فى المرحلة الأولى من عملية الولادة، وأيضاً للإسراع بعودة الرحم إلى حجمه الطبيعى بعد الولادة.

وبالإضافة إلى ماسبق من تأثيرات طبية لقلويدات الأرجوت، فإنها تستعمل -أيضاً- فى علاج بعض حالات اختلال دورة الدم السطحية، وعلاج الصداع النصفى. ولقد أدى ذلك إلى شدة الطلب على هذه الأجسام الحجرية.

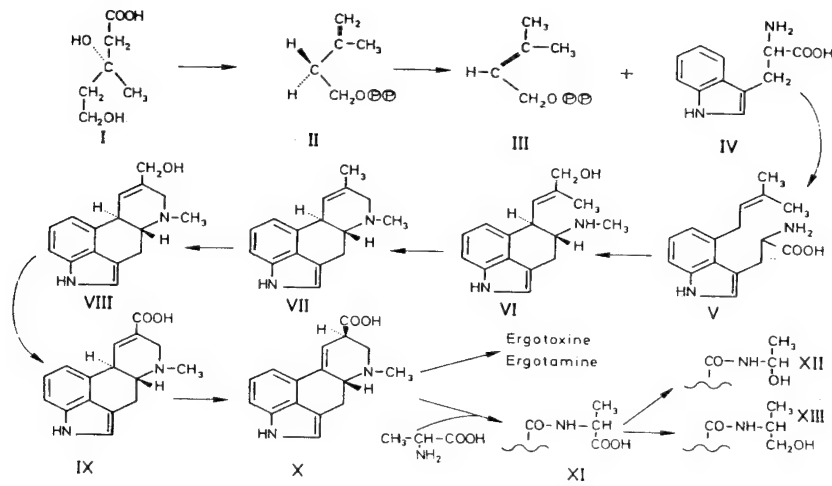
٢- المادة الفعالة:

يرجع سبب هذه التأثيرات الطبية القوية للأجسام الحجرية لفطر الأرجوت إلى وجود مادة (LSD) Lysergic acid diethylamide، والتي تعمل كمادة مخدرة -intoxi-cant؛ وذلك فى التركيزات المنخفضة، والتي تقل عن ٢-٥ ميكروجرام.

وتتميز قلويدات الأرجوت بتركيبها البنائى المميز، والذي يطلق عليه اسم إرجولين ergolin؛ حيث يتركب من نظام رباعى الحلقات tetracyclic ring system يحتوى على حلقة إندول indole.

وهناك مجموعتان رئيسيتان من القلويدات، يمكن أن تُنسب إلى حمض اليسيرجيك lysergic acid، أو إلى النموذج كلافين clavine type؛ حيث يتوقف ذلك على مجموعة الذرات البديلة فى مركب إرجولين ergolin. ويوضح شكل (١٣٨) مراحل التخليق الحيوى لحلقة الإرجولين.

ويعتبر مركب إرجوتامين ergotamine هو أول مركب قلويدى تم استخلاصه بصورة نقية من الأجسام الحجرية لفطر الأرجوت؛ حيث اشتقت منه مجموعة كبيرة من أكثر المركبات المستخدمة فى النواحي العلاجية. ويوجد أكثر من أربعين نوعاً من القلويدات التى تنتجها الفطريات التابعة للجنس *Claviceps* كما هو موضح فى جدول (٢٨).



شكل (١٣٨) : التخليق الحيوي لنظام حلقة الإرجولين ergoline ring .

- I : ميفالونات Mevalonate .
 II : ايزو بنتينيل بيروفوسفات Isopentenylpyrophosphate .
 III : داي ميثيل اليل بيروفوسفات Dimethylallyl pyrophosphate .
 IV : تريبتوفان Tryptophan .
 V : ٤- داي ميثيل اليل تريبتوفان 4-Dimethylallyltryptophan .
 VI : شانوكلافين ١-1 chanoclavin .
 VII : أرجوكلافين Argoclavine .
 VIII : اليموكلافين Elymoclavine .
 IX : حمض دلتا ٨-٩ 8-9-Lysergic acid .
 X : حمض ليسيرجيك Lysergic acid .
 XI : ليسرجيل الانين Lysergylalanine .
 XII : الفاهيدروكسي ايثيلليسيرجاميد α-Hydroxyethyltryptophan .
 XIII : ارجومتريين Ergometrine .

جدول (٢٨) بعض الفطريات المنتجة لقلويدات الارجوت وأنواع القلويدات المنتجة .

نوع الفطر	النبات العائل	النسبة المئوية للقلويدات المنتجة	المركبات القلويدية الرئيسية المنتجة
<i>Claviceps purpurea</i>	القمح، الشعير، الشوفان وخلافه	٠,١ - ٠,٥	مجموعة سموم الارجوت: Ergocornine Ergocryptine, Ergocristine مجموعة الارجوتامين : Ergotamine, Ergosine
<i>C. gigantea</i>	الذره	٠,٠٣	Festuclavine, Pyroclavine Dehydroelymoclavine Chanoclavine
<i>C. paspali</i>	<i>Paspalum spp.</i>	٠,٠٠٣	D- lysergic acid α - hydroxyethyllysergamide
<i>C. fusiformis</i>	<i>Pennisetum ty-phoides</i>	٠,٣	Ergometrine, Agroclavine, Elymoclavine, chanoclavine

٣- الإنتاج التجارى:

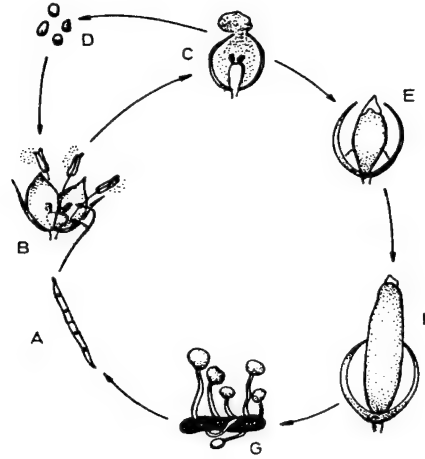
يعتبر المصدر التقليدى لقلويدات الأرجوت هو الأجسام الحجرية الموجودة على سنابل بعض النباتات النجيلية المصابة بالفطر *Claviceps purpurea*. وعندما زاد الطلب على هذه الأجسام الحجرية، اهتمت بعض شركات الأدوية بعدوى بعض النباتات النجيلية بجراثيم هذا الفطر؛ للحصول على محصول أعلى من الأرجوتات.

ولقد استمر هذا الأسلوب فى الحصول على الأجسام الحجرية العظيمة القيمة العلاجية حتى عام ١٩٨٠، إلا أنه بعد ذلك الحين لم يعد الإنتاج التقليدى كافياً لتلبية الاحتياجات المتزايدة من قلويدات الأرجوت، وخاصةً بعد ما اكتشفت الخواص الطبية لهذا المركب ومشتقاته.

وقد وجد أن عدوى النباتات النجيلية بجراثيم فطر الأرجوت تحت ظروف الحقل يحوطها كثير من الأخطار، كما أنها تعتمد على الظروف البيئية التى تحيط بالحقل وقت العدوى، والتى تحدد تكوين الأجسام الحجرية للفطر الممرض. وعلى أية حال، فإنه لم يكن فى الإمكان الحصول على أكثر من محصول واحد من هذه الأجسام الحجرية سنوياً.

والياً تنتج قلويدات الأرجوت عن طريق تنمية بعض الأنواع التابعة للجنس *Clavi- ceps* على بيئة غذائية سائلة فى المعمل؛ سواء على دفعات، أم بالطريقة المستمرة أو بالخلايا الساكنة؛ حيث أمكن إنتاج مركب أجروكلافين *agroclavine* بمعدل ٤-٦،٥ ملليجرام لكل مليلتر بيئة؛ وذلك عند إنماء الفطر *C.fusiformis*، بينما بعض سلالات الفطر *C.paspali* يمكنها إنتاج حوالى ٢ ملليجرام من حمض الليسيريك *Lysergic acid* لكل مليلتر بيئة.

وبعد هذا النجاح الذى تم إنجازه فى المعامل، أمكن إنتاج قلويدات الأرجوت تجارياً عن طريق تقنية التخميرات الفطرية، ولكن يجب أن يوضع فى الحسبان أن تكوين قلويدات الأرجوت فى الأنواع التابعة للجنس *Claviceps* يتم خلال مرحلة تكوين الفطر لأجسامه الحجرية، وليس قبل ذلك.



شكل (١٣٩) : دورة حياة فطر الأرجوت (*Claviceps purpurea*) .

- A - جراثيم أسكية ascospore إبرية الشكل .
 - B - عدوى أزهار الشيلم (الشوفان) .
 - C - نمو هيفات الفطر في مبيض الزهرة .
 - D - إفراز الجراثيم اللاجنسية مع الندوة العسلية مسببة إصابة إضافية دون تكوين قلويدات .
 - E - تجمع هيفات الفطر لتكوين الأجسام الحجرية مع بداية تخليق قلويدات الأرجوت .
 - F - نضج الأجسام الحجرية خلال شهرين .
 - G - تكوين الطور الجنسي (الأجسام الثمرية الأسكية القارورية المتقدمة في الحشبات الثمرية) .
- وكذلك أمكن تحسين بعض سلالات الأنواع التابعة للجنس *Claviceps* العالية الإنتاج للقلويدات؛ وذلك عن طريق تحفيزها على التطفر، سواء بتعرض جراثيمها للأشعة فوق البنفسجية، أم لأشعة جاما، أم للكيميائيات المطفرة، ثم بلى ذلك اختيار أفضل السلالات الناتجة من الجراثيم التي تبقى محتفظة بحيويتها.

وبالإضافة إلى ماسبق، اتبعت تقنية نقل الصفات الوراثية المرغوبة عن طريق البلازميدات، وينتظر أن تحقق هذه التقنية زيادة معدلات إنتاج هذه المركبات الحيوية الهامة في المستقبل القريب.

ويتم الإنتاج التجارى لقلويدات الأرجوت عن طريق إنماء *Mislium* السلالة الفطرية فى بيئة سائلة داخل أوعية تخمير عملاقة؛ تسع الواحدة منها نحو ٣٠ ألف لتر. وعندما ينمو هذا *Mislium* الفطرى فى البيئة السائلة، فإنه يتميز إلى خلايا تشابه تلك الموجودة داخل الأجسام الحجرية، دون أن تتكون أجسام حجرية حقيقية.

ويستعمل التريبتوفان *tryptophan* كمادة محفزة لإنتاج قلويدات الأرجوت؛ حيث يزداد الإنتاج عند إضافته إلى البيئة المستخدمة فى تنمية الفطر. ويفضل استخدام مصدر كربونى بطيء فى تمثيله الغذائى للفطر؛ مثل المانيتول أو السكروز، كما أن ارتفاع تركيز المواد الكربوهيدراتية يعمل على زيادة الضغط الأسموزى؛ مما يثبط تكوين كونيديات الفطر، بينما يؤدى إلى زيادة تكوين الخلايا الشبيهة بالأجسام الحجرية *sclerotia-like cells*. ويجب توفر أحد الأحماض الثلاثية الكربوكسيل، أو مشابهاها مثل السترات.

وهناك احتياجات أخرى للفطر عند إنمائه فى بيئة التخمر؛ مثل توفر مصدر جيد للنيتروجين - كالأمونيا - وأيضاً كميات محدودة من الأيونات المعدنية؛ مثل الحديد Fe^{++} والمغنسيوم Mg^{++} ، والزنك Zn^{++} ، والتي يحتاج إليها الفطر فى نشاطه الإنزيمى. ويتم التحكم فى إنتاج قلويدات الأرجوت عن طريق الفوسفات؛ حيث يجب أن يكون تركيزها منخفضاً للغاية فى البيئة، أو أن تكون البيئة خالية منه لكى يكون الإنتاج مثالياً.

وحيث إن قلويدات الإرجوت تختلف فيما بينها فى أنواع الأحماض الأمينية التى تكون سلسلتها الجانبية، فإنه يمكن الحصول على إنتاج عالٍ من هذه القلويدات؛ وذلك عن طريق تنظيم نسب الأحماض الأمينية التى تجب إضافتها إلى بيئة التخمر التى ينمو فيها الفطر.

ويحتاج تكوين هذه المركبات بواسطة فطر الإرجوت إلى توفر ظروف تهوية جيدة؛ حيث يتم ذلك عن طريق دفع الهواء المحمل بالأكسوجين خلال البيئة السائلة. كما يجب أن تكون حرارة البيئة حوالي ٢٤°م، ورقم الحموضة ٥,٥. وتستمر فترة التخمر بين ١٢ يوماً و ١٦ يوماً؛ حيث يصل تكوين قلويدات الأرجوت إلى المرحلة النهائية، ثم يتم استخلاص هذه المواد من البيئة باستعمال بعض المذيبات العضوية.

خامساً: الفطريات السامة:

يمكن القول إن السمية الناتجة عن تناول الأجسام الحجرية لفطر الإرجوت أصبحت نسيًا منسيًا في ذاكرة البشرية، وجزءًا من الماضي البعيد في دول العالم التي تعتمد على حبوب الشيلم في غذائها.

إلا أن مشاكل البشرية مع السموم الفطرية لم تنته بمجرد معرفة التأثير السام للأجسام الحجرية لفطر الإرجوت؛ فمازال التسمم الفطري mycetism الناشئ عن تناول فطريات عيش الغراب السامة في تزايد عامًا بعد آخر، وخاصةً مع تزايد اهتمام الأفراد بجمع ثمار عيش الغراب البرية وأكلها، دون التفرقة بين الأنواع المأكولة المأمونة العاقبة والأنواع الأخرى السامة.

وحيث إنه لا توجد قواعد عامة يمكن الاعتماد عليها في التفرقة بين الأنواع المأكولة، والأخرى السامة من عيش الغراب؛ فإن خطورة الأنواع السامة سوف تظل مصدرًا لخطر حقيقي على صحة وحياة هؤلاء المهتمين بجمع ثمار عيش الغراب البرية من أماكن انتشارها، وخاصةً أن هذه السموم الفطرية لا يمكن إزالتها أو تخفيف آثارها بالغسيل أو الطهي.

وعلى ذلك، فإن السبيل الوحيد لتجنب التسمم ببعض أنواع فطريات عيش الغراب البرية هو التعرف على الأنواع المأكولة وجمعها، وتجنب أية أنواع أخرى مجهولة أو ليست مألوفة. ولقد انتشرت كثير من الجمعيات الأهلية في أوروبا والولايات المتحدة؛ حيث تعمل هذه الجمعيات على توضيح شكل الأنواع المأكولة من عيش الغراب البري وأماكن انتشارها، كما يلجأ الأعضاء الجدد إلى الخبراء للتعلم؛ حيث إن الخطأ الأول - في مثل هذه الحالات - قد يكون آخر الأخطار التي يرتكبها الإنسان في حياته.

ويعتمد على شكل ولون ثمار عيش الغراب البرية في تحديد نوعها وقيمتها من الناحية الغذائية، أو مدى خطورتها على صحة وحياة الإنسان؛ لذا يجب -عند تعريف هذه الأنواع البرية من فطريات عيش الغراب- أن تكون الثمار كاملة غير ممزقة، وغير تالفة، حتى يكون تعريفها والحكم على صلاحيتها كطعام حكماً سليماً.

وهناك أنواع أخرى من فطريات عيش الغراب البرية تتميز بتأثيرها على عقل الإنسان وإدراكه *hallucinogenic mushroom*؛ مثال ذلك بعض الأنواع التابعة للجنس *Psilo-cybe*، وإن كان بعض المهتمين بجمع ثمار عيش الغراب البرية يجدون في طلبها واستهلاكها بأنفسهم، أو بيعها للآخرين بصورة غير قانونية؛ نظراً لتأثيراتها على الصحة النفسية للأفراد.

وعلى الرغم من انتشار مثل هذه الأنواع السامة من فطريات عيش الغراب وغيرها من الفطريات الهيفية، إلا أن الاستفادة من هذه السموم فيما يفيد البشرية مازال في مراحله الأولى، وإن كانت هناك بعض الأمثلة التي يمكن الإشارة إليها.

فعلى سبيل المثال، أظهرت الدراسات العلمية الحديثة أن الجرعات الصغيرة من بعض فطريات عيش الغراب السامة -مثل فطر عيش غراب الذبابة *Amanita muscaria* - ذات تأثير مهدئ للأعصاب، وتساعد على النوم الهادئ. بينما يمكن استعمال تخضيرات من فطر عيش الغراب السام *Inocybe fastigiata* في علاج بعض الأمراض الجلدية مثل أنواع معينة من الإكزيما.

وكذلك الحال في التوكسينات التي تفرزها بعض الفطريات الهيفية، مثل مادة أفلاتوكسين B₁، والتي يفرزها الفطر *Aspergillus flavus* والفطر *A. parasiticus*، فلقد أثبت البحث العلمي الحديث أن هذا التوكسين ذو تأثير محدود لإيقاف نشاط تكوين بعض الأورام *weak antitumour effects*. وأيضاً لوحظ مثل هذا التأثير على

تثبيط نمو مختلف الأورام الخبيثة التي تتكون في الأنسجة الضامة لفموان التجارب وذلك عن طريق توكسينات بعض الفطريات الهيفية الأخرى.

ويمكن تقسيم السموم الفطرية تبعاً لتأثيرها على جسم الإنسان وأعضائه المختلفة، وأيضاً حسب تركيبها الكيميائي إلى مايلي: -

١ - السموم الفطرية المحللة لخلايا الجسم cytolytic poisoning:

أ - الببتيدات الحلقية cyclopeptides:

تعتبر الأماتوكسينات amatoxins من أهم المركبات السامة التابعة للببتيدات الحلقية، والتي يتبعها المركبان ألفا وبيتا أمانيتين α -amanitin and β -amanitin. والمركبان السابقان ثابتان حرارياً، ويستمر تأثيرهما السام حتى بعد الطهي الجيد للثمار المحتوية عليهما، وأيضاً في الثمار بعد تجفيفها.

وتظهر أعراض التسمم بمركبات الأماتوكسينات بعد حوالي ٨ ساعات - ١٥ ساعة من تناول ثمار عيش الغراب المحتوية عليها؛ حيث تتميز الأعراض الناتجة بالاضطرابات المعوية، خاصة آلام البطن، والغثيان، والقيء، والإسهال. وقد تستمر هذه الأعراض ويعانيها المريض خلال اليوم التالي من تناوله لثمار عيش الغراب السامة المحتوية على هذه المركبات، فإذا حل اليوم الثالث، أصيب الكبد بتلف شديد، وينتهي الأمر -عادة- بالوفاة.

وتنتج مثل هذه التوكسينات بواسطة فطر عيش غراب القبة المميتة Death cap- *mushroom (Amanita phalloides)*؛ وهو من أكثر فطريات عيش الغراب السامة شهرةً من ناحية تأثيره المميت على ضحاياه؛ ممن يجمعون ثماره ويأكلونها عن طريق الخطأ.

وبالإضافة إلى ماسبق، يجب أن يدرك الأفراد المهتمون بجمع ثمار عيش الغراب البرية بالأنواع القريبة الصلة والتابعة لنفس الجنس، والتي تختلف فيما بينها اختلافاً كبيراً من ناحية تأثيرها على صحة آكليها، على الرغم من تشابهها في الشكل واللون إلى حدٍ بعيد.

ب- الأوريلانين orellanin:

يطلق المصطلح «أوريلانين» على مجموعة من المركبات السامة الثابتة حرارياً والمقاومة لعوامل الجفاف؛ مثال ذلك: مركبات orellanine و grzymaline، و cor-tinarine، بالإضافة إلى مركبين يتبعان مجموعة البنزونينات benzonines.

ويتميز التسمم بمثل هذه المركبات بتأثيره على الجهاز الهضمي للإنسان، تتبعه أعراض من التشنجات العضلية مصحوبةً بصداع وآلام في الظهر. وتسبب هذه السموم (التوكسينات) الفشل الكلوي خلال ٧-١٧ يوماً من تناول هذه الثمار السامة، وخاصةً تلك التابعة للجنس *Cortinarius*؛ مثل الفطر *C. speciosissimus*.

ج- الجيروميترين Gyromitrin:

عند تحليل هذا المركب السام تحليلاً مائياً ينتج عنه أحادي ميثيل هيدرازين mono-methylhydrazine (شكل ١٤٠). وحيث إن مركب الجيروميترين موجوداً في بعض الفطريات، فإن تحليله المائي يرتبط برقم الحموضة؛ حيث يحدث ذلك -عادةً- بعد تناول ثمار هذا الفطر تحت فعل حموضة المعدة.

ويتميز الجيروميترين بعدم ثباته حرارياً، ويمكن إبطال فاعليته بسلق الثمار سلقاً جيداً، ثم التخلص من ماء السلق. وعند تناول هذه الثمار طازجةً أو مطهوءةً طهيًا خفيفاً، فإن المادة السامة تكون فعالةً، وتؤثر على المعدة بعد حوالي ست ساعات من تناولها، ثم تتأثر الكلى، كما يتأثر الكبد بعد ذلك.

ويعتبر أحادي ميثيل الهيدرازين مادةً سامةً أيضاً؛ حيث يؤثر على الجهاز العصبي المركزي the central nervous system، كما يعتبر هذا التوكسين هو الوحيد من السموم الفطرية التي تتميز بإحداث حمى شديدة. ومن أهم فطريات عيش الغراب السامة المحتوية على هذا التوكسين فطر عيش غراب المورشيلا الكاذبة (*Gyromitra es-culenta*).

٢- السموم الفطرية المحللة لخلايا الدم Haemolytic poisoning :

تعمل هذه السموم على تلف خلايا الدم الحمراء؛ مما يتسبب في حدوث أنيميا. وليس من المعروف- على وجه التحديد- نوع المركب المسئول عن هذا التلف، ولكن من المحتمل أن يكون فالوليسين phallolysin .

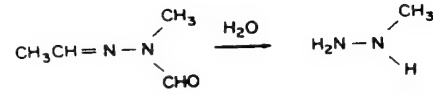
ومعظم المركبات المؤثرة على الدم حساسة لدرجة الحرارة العالية؛ مما يتلفها إذا تم طهي الثمار المحتوية عليها. ومن فطريات عيش الغراب السامة التي تحتوى على المركبات المؤثرة على الدم فطر عيش الغراب الخجول (*Amanita rubes*) Blushermushroom (cens)، وفطر عيش غراب الفتاة الفرنسية (*Amanita vaginata*) . Grisette mushroom

٣- سموم الكوبرين Coprine toxins :

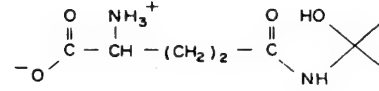
هناك عديد من أنواع فطريات عيش الغراب المأكولة التابعة للجنس *Coprinus*؛ والتي تتميز بطعمها اللذيذ، إلا أنها تسبب أعراض تسمم عندما تؤكل ويشرب معها- في الوقت نفسه- مشروبات كحولية.

وتتميز أعراض السمية في هذه الحالة بوجود طعم معدني في فم الإنسان، يصاحبه احمرار الوجه والرقبة، وآلم الصدر، مع الشعور بدوار (دوخة)، بالإضافة إلى قيء وإسهال. وتبقى هذه الأعراض لمدة حوالى ساعتين، إلا أنها تعود مرة أخرى إذا تناول الإنسان مشروباً كحولياً خلال الـ ٤٨ ساعة التالية للتسمم.

ويعرف مركب التسمم باسم كوبرين coprine؛ وهو موجود في فطر عيش الغراب ذى القبعة الجبرية المألوف (العادي) common ink cap ، (*Coprinus atramentarius*) وفطر عيش غراب فليوتا ذى اللحية الشعثاء (*Pholiota squarrosa*) shaggy pholilta .



شكل (١٤٠) : تحول مركب الجيروميترين gyromitrin إلى أحادي ميثيل هيدرازين monomethylhydrazine . drazine



شكل (١٤١) : سم الكوبرين Coprine .

٤- السموم الفطرية المؤثرة على العقل والإدراك Psychotropic toxins :

تؤثر هذه التوكسينات على الجهاز العصبي المركزي central nervous system ؛ مسببة اختلاط العقل (هلوسة hallucinations) وهذيان delirium .

١- الموسكيمول وحمض الالايوتينيك والموسكازون:

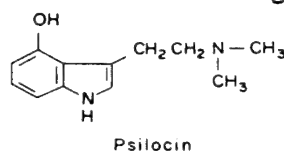
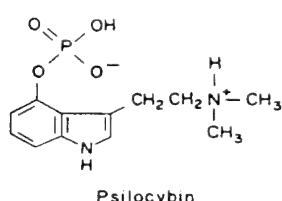
تعتبر هذه المركبات muscimol, ibotenic acid and muscazone من مشتقات الأيزوكسازول isoxazole derivatives ؛ حيث يعتبر توكسين الموسكيمول أكثر هذه المركبات سمية. وينحصر وجود هذه المركبات في أنواع فطريات عيش الغراب التابعة للجنس Amanita .

ويتشابه تأثير هذه السموم الفطرية مع تأثير تناول المشروبات الكحولية؛ مثل الميل للنوم (النعاس) والتي تصل -في الحالات الشديدة- إلى الغيبوبة وفقدان الوعي. ومن أكثر فطريات عيش الغراب -المحتوية على مثل هذه السموم- شهرةً فطر عيش غراب الذبابة fly agaric (*Amanita muscaria*)، وفطر عيش الغراب المدرع panther cap mushroom (*Amanita pantherina*).

ب- السموم الفطرية المحتوية على مجموعة الإندول Indole group toxins:

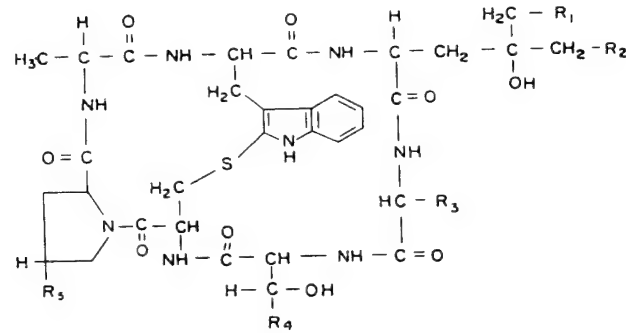
يزداد التأثير بالتوكسينات المحتوية على مجموعة الإندول -مثل سيلوسين وسيلوسيبين psilocin and psilocybin- لدى الأشخاص الشديدي الحساسية؛ حيث يظهر عليهم أعراض تشابه تلك الأعراض الناتجة عن تناول المشروبات الكحولية.

وتستعمل فطريات عيش الغراب المحتوية على مثل هذه السموم كعقارٍ مهدئٍ مزيلٍ للتوتر recreational drug؛ مثال ذلك فطر عيش الغراب ذي القبعة الحرة liberty cap mushroom (*Psilocybe semilanceata*)، وفطر عيش غراب الرؤوس الذهبية golden tops mushroom -عيش الغراب السحري magic mushroom- (*Psilocybe cubensis*) بالإضافة إلى بعض أنواع عيش الغراب التابعة للجنس *Panaeolus*.



شكل (١٤٢): سموم سيلوسين وسيلوسيبين التي يكونها فطر عيش الغراب ذو الرؤوس الذهبية

Psilocybe cubensis.



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Phalloidin	-OH	-H	-CH ₃	-CH ₃	-OH
Phalloin	-H	-H	-CH ₃	-CH ₃	-OH
Phallisin	-OH	-OH	-CH ₃	-CH ₃	-OH
Phallacidin	-OH	-H	-CH(CH ₃) ₂	-COOH	-OH
Phallacin	-H	-H	-CH(CH ₃) ₂	-COOH	-OH
Phallisacin	-OH	-OH	-CH(CH ₃) ₂	-COOH	-OH
Phallin B	-H	-H	-CH ₂ C ₆ H ₅	-CH	-H

شكل (١٤٣): سموم الفالوتوكسينات phallotoxins .

ج- الهوردينين، التيرامين و ن - ميثيل تيرامين :

يحتوى قليل من الفطريات على مثل هذه المركبات القلويدية hordenine, N-methyltyramine and tyramine التي تسبب غثياناً، بالإضافة إلى تأثيرها على الجهاز العصبي المركزي مسببة الشعور بالدوار. وتوجد هذه التوكسينات في فطر عيش الغراب الثقبى ذى اللون الأصفر الكبريتي -*Laetiporus sulphureus* sulphure pol.

ypore، وفطر عيش الغراب الثقبى العملاق (Meripilus giganteus) giant poly-pore.

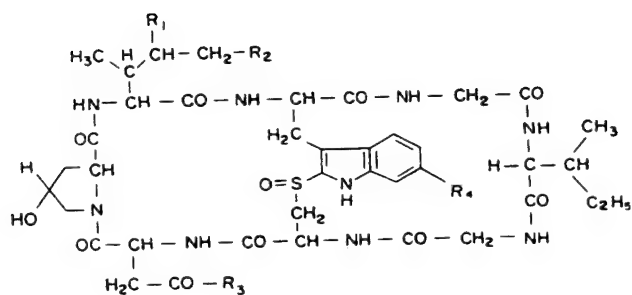
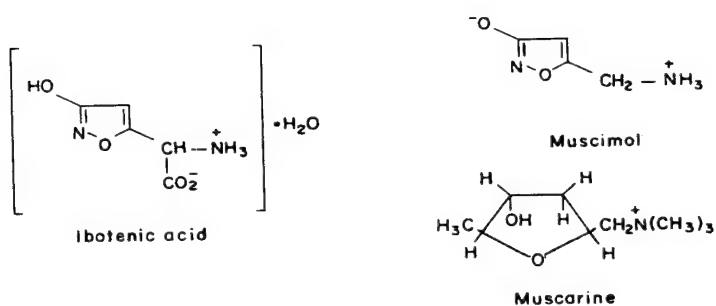
د - سموم الماسكارين Mascarine toxins:

يؤدي تناول فطريات عيش الغراب المحتوية على القلويد السام «ماسكارين» إلى زيادة نشاط الغدد العرقية خلال ساعتين من الهضم؛ فيزيد العرق، مع حدوث إسهال، والشعور بالغثيان، وقد تحدث -في بعض الحالات- رؤية أشياء غير واضحة وتهيؤات. وينصح عادةً - عند التعرض لمثل الحالات السابقة - بحقن المصاب بالأترابين at-ropine كمعالجة ناجحة. وتوجد هذه التوكسينات في بعض فطريات عيش الغراب السامة؛ مثل: فطر عيش غراب الذبابة *Amanita muscaria*، وفطر عيش الغراب المدرع *Amanita pantherina* بالإضافة إلى فطر *Clitocybe dealbata*، وبعض الأنواع التابعة للجنس *Inocybe*.

هـ - حالات أخرى من التسمم العيش غرابي:

وبالإضافة إلى ماسبق، يمكن أن تكون أعراض السمية التي تظهر على بعض الأفراد الذين يتناولون ثمار عيش غراب سامة ناتجة من وجود مواد مسببة للاضطرابات المعوية، ولوجود حمض الهيدروسيانيك hydrocyanic acid، بالإضافة إلى بعض المضادات الحيوية التي تنتجها مثل هذه الفطريات الراقية.

وهناك نوع من الحساسية يديها بعض الأفراد عند تناولهم أنواعاً معينة من ثمار عيش الغراب، على الرغم من أنها لأنواع مأكولة وغير ضارة، ولا تسبب أية أعراض مرضية للعامة. وربما تشبه هذه الحساسية ما يظهر على بعض الأفراد عند تناولهم أطعمة معينة، مثل الشيكولاتة أو الفراولة.



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
α -amanitin	-OH	-OH	-NH ₂	-OH
β -amanitin	-OH	-OH	-OH	-OH
γ -amanitin	-OH	-H	-NH ₂	-OH
ϵ -amanitin	-OH	-H	-OH	-OH
Amanin	-OH	-OH	-OH	-H
Amanullin	-H	-H	-NH ₂	-OH
Amaninamide	-OH	-OH	-NH ₂	-H

Amatoxins

شكل (١٤٢): بعض السموم (التوكسينات) التي تكونها الأنواع السامة لفطريات عيش الغراب من الجنس

.Amanita

سادساً: سموم الأفلاتوكسينات:

١- لمحة تاريخية :

فى إحدى مزارع الديوك الرومية القريبة من لندن، ظهرت أعراض غريبة على الطيور المرباة، ثم مات نحو ١٠٠ ألف طائر فى شهر قليلة من عام ١٩٦٠. وعلى الرغم من حجم هذه الكارثة، إلا أن هذه الأعراض لم تظهر فى المزارع الأخرى الموجودة فى إنجلترا. ولقد أطلق العلماء على هذا المرض اسم مرض الديوك الرومية المجهول turkey x-disease؛ نظراً لجهلهم بالمسبب.

وبعد ذلك بسنوات، أدرك العلماء أن هذه الطيور كانت قد تغذت على علفٍ أُنتج من أحد مصانع العلف فى لندن؛ حيث تم تصنيع العلف من كسب الفول السودانى؛ والذى كانت حبوبه ملوثة بفطر نمى عليها؛ مفرزاً سمومه القاتلة فيها.

وتم عزل هذا الفطر وتنقيته، ثم عرف أنه *Aspergillus flavus*؛ لذا اشتق من اسم هذا الفطر اسم التوكسين A.flu-toxin، وأصبح بعد ذلك معروفاً باسم أفلاتوكسين aflatoxin.

ومنذ ذلك الحين أمكن التعرف على هذا التوكسين فى جميع أنحاء العالم، وملاحظة آثاره السيئة على صحة الإنسان وحيوانات المزرعة التى يقوم بتربيتها. وأظهرت الدراسات - بعد ذلك - أن الأفلاتوكسين من أقوى المواد المشجعة لحدوث الطفرات mutagenic agent ذات التأثير المسرطن carcinogenic agent؛ التى توجد فى الطبيعة.

وتعتبر الأفلاتوكسينات مركبات متنوعة التركيب، تنتج من عديد من الأنواع

التابعة للجنس *Aspergillus*؛ مثل الفطر *A. parasiticus*. وينتشر وجود هذه الفطريات المنتجة للأفلاتوكسينات ملوثة لبذور الفول السوداني، وبذور القطن، هذا بالإضافة إلى عديد من الثمار البندقة؛ مثل البندق، واللوز، وعين الجمل، والبكان، وغيرها.

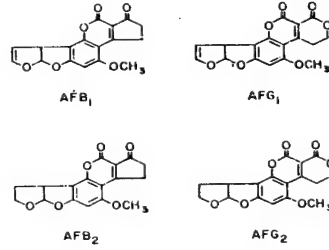
وينتشر وجود هذه الفطريات على حبوب الذرة والقمح وغيرها من أنواع الحبوب الأخرى، وخاصةً عند تخزينها في ظروف الرطوبة العالية؛ حيث تنمو مثل هذه الفطريات مفرزة سموم الأفلاتوكسين على الحبوب، مسببةً مشكلاتٍ صحيةٍ لاحتصاها لمن يتغذى عليها، سواء أكان إنساناً أم حيواناً.

٢- تركيب الأفلاتوكسينات:

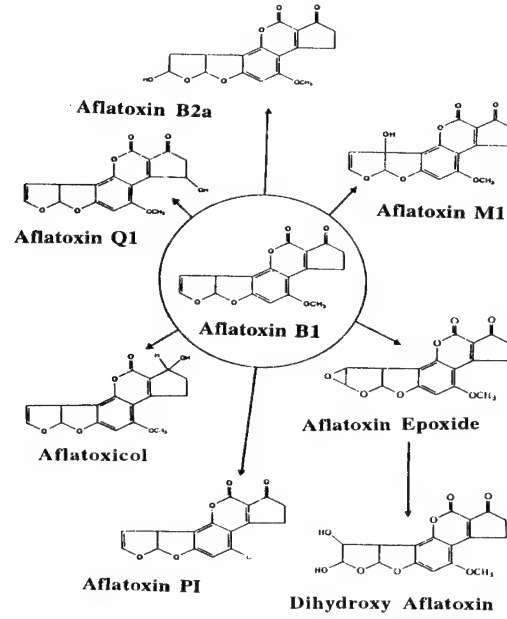
تتشترك هذه المجموعة من السموم الفطرية في تركيبها الجزيئي الأساسي؛ حيث تعتبر مشتقات كومارين عالية الأكسوجين، ذات حلقةٍ مختلطة highly oxygenated coumarin-derivative heterocyclic compounds.

ولقد وجد أن معظم سموم الأفلاتوكسين الموجودة في الأغذية ذات المنشأ النباتي هي من أنواع أفلاتوكسين B، G. وترجع هذه التسمية إلى لون الضوء الفلورسنتي المنعكس عند تعريض الأغذية المحتوية على سم الأفلاتوكسين إلى الأشعة فوق البنفسجية؛ حيث يعكس أفلاتوكسين B لوناً فلورسنتياً أزرق (B) blue، بينما يعكس أفلاتوكسين G لوناً أخضر (G) green.

ويعتبر أفلاتوكسين B_1 (AFB_1) هو أكثر أنواع سموم الأفلاتوكسينات انتشاراً في الطبيعة، وأكثرها سمية للإنسان والحيوان، فإذا ما لوث هذا التوكسين علف أحد الحيوانات وتغذى عليه، فإن هذا التوكسين يهضم داخل معدة الحيوان، ويتحول غذائياً إلى أفلاتوكسين M (metabolic aflatoxin). ويوضح شكل (١٤٦) نواتج التمثيل الغذائي للأفلاتوكسين B_1 .



شكل (١٤٥) تركيب أنواع الافلاتوكسين الأساسية.



شكل (١٤٦) نواتج تمثيل الافلاتوكسين ب١ (AFB₁).

وهناك أنواع مختلفة من نواتج التحول الغذائي للأفلاتوكسينات AFM داخل معدة الحيوان، لعل أخطرهما هو AFM₁. وترجع خطورة هذا التوكسين إلى قدرته على الانتقال إلى الأجيال الجديدة للحيوانات الثديية عن طريق لبن الأم.

ويعتبر التوكسين AFM₁ أقل سمية من التوكسين AFB₁، وعلى الرغم من ذلك فإن التوكسين الأول يهدد حياة الأطفال الحديثي الولادة؛ حيث يرجع ذلك إلى أنهم أكثر حساسية لتأثير الأفلاتوكسينات؛ بالمقارنة بالبالغين، وينطبق ذلك - بطبيعة الحال - على الحيوانات الصغيرة الرضعية.

وهكذا يلعب اللبن الملوّث بسموم الأفلاتوكسين المتحوّلة غذائياً AFM₁-الناجم عن حيوانات (أبقار) تغذت على علف ملوّث بالفطريات المنتجة لهذه السموم - دوراً خطيراً على صحة الإنسان، وخاصة الأطفال الذين يعتمدون على هذا اللبن في غذائهم.

ويعتبر هذا النوع من السموم (AFM₁) ثابتاً، ويظل محتفظاً بخطورته على صحة الإنسان حتى بعد تخفيف اللبن، وأيضاً بعد تصنيعه على صورة منتجات غذائية؛ مثل الجبن أو الزبادي، وهكذا تستمر خطورة هذه السموم على صحة الإنسان.

٣- إنتاج الأفلاتوكسينات:

يتم إنتاج هذه السموم كنواجز للتمثيل الغذائي الثانوي لنوعين من الفطريات التابعة للجنس *Aspergillus*؛ هما *A.flavus* و *A.parasiticus*. ولاتتكون هذه السموم في جميع حالات نمو الفطرين السابقين، ولا يعني عزل أحدهما من حبوب أو عينات نباتية وجود التوكسين - بالضرورة - عليها.

ولا يتم تكوين الفطر لهذه السموم إلا تحت ظروف بيئية محددة؛ مثل ارتفاع الرطوبة، ودرجات الحرارة الملائمة، ووجود إصابة حشرية، وغير ذلك من عوامل تؤدي إلى تغيير المسارات الحيوية للتمثيل الغذائي للفطر وتكوين الأفلاتوكسينات.

ويعتبر الفطر *A.flavus* مسؤولاً عن إفراز هذه السموم في المناطق المعتدلة من العالم، في حين أنه في المناطق الاستوائية وتحت الاستوائية يلعب الفطر *A.parasiticus* دوراً كبيراً في هذا المجال.

وينتشر نوعا الفطر *Aspergillus* -المقرزان للأفلاتوكسينات- فى التربة الزراعية؛ حيث يترمان على المخلفات العضوية الموجودة بها. كما يلوث هذان الفطران الحبوب المخزونة وغيرها من الأغذية ذات الأصل النباتى خلال فترة تخزينها. وفى بعض الأحيان يهاجم هذان الفطران بعض النباتات الحية، ويتطفلان عليها.

فعلى سبيل المثال، يهاجم الفطر *A.flavus* بذور الفول السودانى والقطن وحبوب الذرة أثناء تكوينها فى الحقل، كما يمكن أن تغزو هيفات هذا الفطر الأنسجة النباتية من خلال الجروح التى تحدثها الحشرات، وتنمو هيفاتها كإصابة ثانوية.

وقد يغزو ميسليوم الفطر جنين البذرة (الحبة)، دون أى عائق؛ فإذا تم تكوين البذور (الحبوب) وخزنت فى مخازن سيئة التهوية ذات رطوبة نسبية عالية، فإن هذا الميسليوم يستكمل نموه تحت هذه الظروف؛ منتجا سموم الأفلاتوكسين.

وينتج الفطر هذه المواد السامة عند درجات حرارة تتراوح بين ٢١٢°م و ٤٢°م، فإذا ارتفعت درجة الحرارة عن ذلك، استمر النمو الفطرى دون أن تتكون الأفلاتوكسينات، كما يؤدى انخفاض رطوبة الحبوب إلى عدم تكوين مزيد من هذه السموم.

٤- سمية الأفلاتوكسينات:

يمكن للأفلاتوكسينات إحداث تأثيرات سامة مختلفة على الحيوانات الفقارية؛ مثل: طفرات جينومية *genomic mutations*، وتشوهات كروموسومية *chromosomal abnormalities*، وتشوهات خلقية *developmental abnormalities* فى الجنين قبل الولادة أو بعدها، وخفض لجهاز المناعة *suppression of immune system*، بالإضافة إلى إحداث مرض السرطان *cancer*.

ولقد أظهر البحث العلمى أن أكثر التأثيرات السيئة -الناجمة من هضم سموم الأفلاتوكسين- هى مرض سرطان الكبد فى الإنسان والحيوانات الأليفة.

ويؤدى تناول أغذية ملوثة بمستويات منخفضة من الأفلاتوكسينات (حوالى ١٥ جزءاً فى المليون) -لفترات طويلة من الوقت- إلى حدوث تورمات فى الكبد فى

معظم الحيوانات الفقارية بما فيها الإنسان نتيجة التأثير التراكمي، وفي إحدى الدراسات التي أجريت على تغذية أسماك السلمون الملونة بألوان قوس قزح rainbow trout، أوضحت النتائج أن تلوث علف هذه الأسماك - بتركيز نصف جزء في المليون من سموم الأفلاتوكسين - أدى إلى إصابتها بسرطان الكبد، ثم ماتت هذه الأسماك بعد فترة وجيزة.

وكم عانت حيوانات المزرعة - مثل الماشية، والخيول، وأيضاً الدواجن - أعراضاً سمية ظهرت عليها فجأة نتيجة تناولها علفاً فاسداً؛ نُمى عليه بعض الفطريات المنتجة لسموم الأفلاتوكسينات.

وأظهرت نتائج عديد من الدراسات أن الحيوانات الصغيرة أكثر حساسية لهذه السموم بالمقارنة بالحيوانات الكبيرة من نفس النوع. فعلى سبيل المثال تأثرت العجول الصغيرة بسموم الأفلاتوكسينات بدرجة أكبر من تأثر الأبقار البالغة، كما أظهرت بعض أنواع حيوانات المزرعة حساسية بالغة لهذه السموم أكثر من غيرها؛ مثال ذلك صغار البط - عمر يوم - التي كانت أكثرها حساسية للأفلاتوكسين؛ بعكس الأغنام التي أبدت تحملاً ملحوظاً لتلوث علفها بالأفلاتوكسينات.

كما يلعب نوع العلف المقدم للحيوان دوراً بارزاً في تسممه بسموم الأفلاتوكسينات؛ فالحيوانات التي تتغذى على علف فقير في البروتين تكون أكثر حساسية للتوكسين، بالمقارنة بالحيوانات التي تتناول علفاً متوازناً من العناصر الغذائية المختلفة.

وتختلف ردود الأفعال المختلفة لحيوانات التجارب تبعاً لنوع الحيوان؛ فعادةً ما يحدث تسمم مزمن chronic poisoning؛ نتيجة هضم كميات بسيطة من هذه السموم، ولددي طويلاً من الوقت.

وتتميز أعراض التسمم المزمن بفقدان الشهية في المراحل الأولى منه، ثم يقل نمو الحيوان مع تضخم الكبد. وقد ينزف جزء من الكبد أو تتضخم بعض أجزائه. كما يؤثر

التسمم المزمن أيضاً على الجهاز المناعي للجسم الذى تنخفض فاعليته.

وقبل أن يموت الحيوان بأيام قليلة، يصاب بحالة من الاكتئاب والانقباض، ثم يصاب بدوار ويترنح أثناء سيره، وبعد ذلك تزداد هذه الحيوانات فى عصبيتها، وتصاب بتشنجات وتقلصات عضلية لا إرادية وغير سوية.

وفى تجارب أخرى، أعطيت حيوانات التجارب جرعة كبيرة واحدة من الأفلاتوكسين خلال مدة وجيزة لاتتعدى أسبوعاً. ولقد ماتت هذه الحيوانات خلال المدة السابقة؛ نتيجة تأثير كبدتها - بشدة - بهذا التسمم الحاد acute poisoning، كما أثبتت الدراسات أن باقى أجهزة الجسم الأخرى - مثل الكلى والطحال والرئة - قد تأثرت هى الأخرى بهذا التسمم.

وبالإضافة إلى ماسبق، هناك تغيرات أخرى تحدث فى الحيوان الذى تغذى على علف ملوث بسموم الأفلاتوكسين، وكانت هذه التغيرات على مستوى الخلية والجزيئات؛ مما أدى إلى حدوث طفرات وسرطان عقب هضم الحيوان لهذا العلف الملوث. ولقد تناولت عديد من هذه الأبحاث دراسة سموم أفلاتوكسين ب₁ (AFB₁) ؛ نظراً لشدة سميتها وانتشارها فى الطبيعة عن غيرها من أنواع الأفلاتوكسينات الأخرى.

فلقد أظهرت النتائج أن هضم الحيوان لهذا التوكسين (AFB₁) الملوث للعلف المقدم إليه يؤدي إلى تحوله حيويًا إلى عديد من نواتج التمثيل الغذائى عن طريق السيتوكرومات P-450؛ وهى مجموعة من العوامل المؤكسدة المختلطة الموجودة فى الكبد والرئة والقولون. ويوضح شكل (١٤٧) التحولات الحيوية للأفلاتوكسين B₁ وتأثيراتها.

وتعتبر هذه المواد الناتجة من التمثيل الغذائى للأفلاتوكسين ب₁ (AFB₁) أقل سمية منه، كما يتخلص منها الجسم عن طريق البول؛ نظراً لكونها مركبات يسهل ذوبانها فى الماء؛ وبناءً على ذلك، يعتبر تحول هذه المركبات السامة حيويًا فى الجسم

من العوامل الهامة التي تعمل على إزالة سميتها، ثم التخلص منها عن طريق الإخراج.

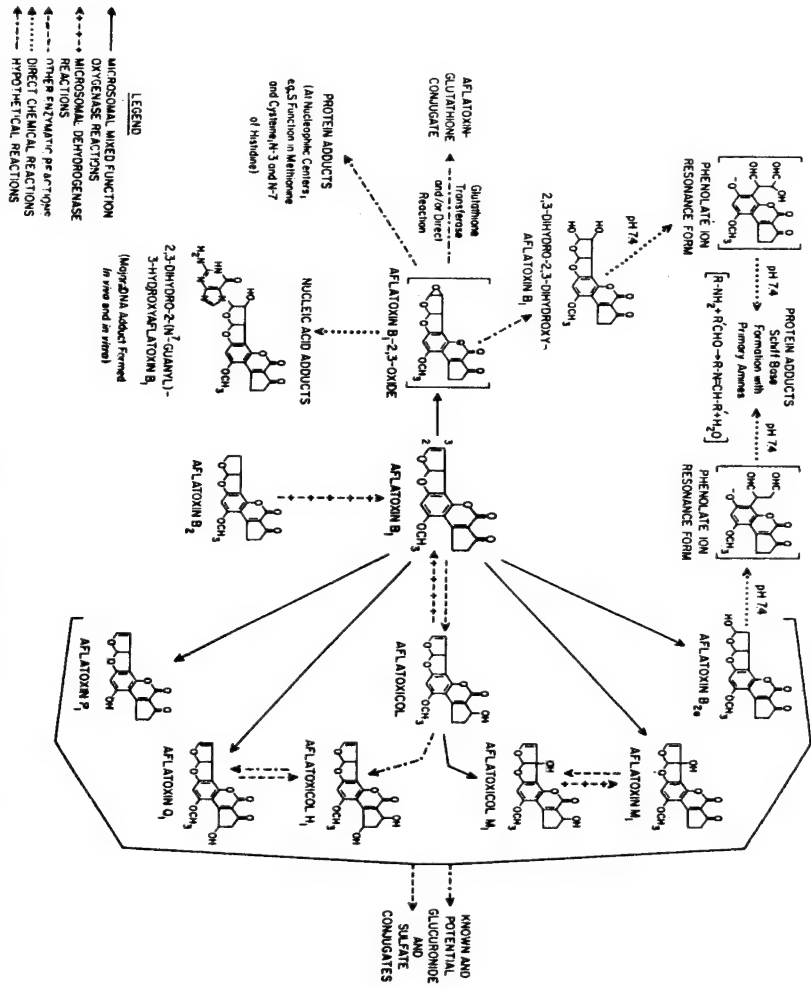
إلا أن هناك بعض المركبات الناتجة من التمثيل الغذائي للأفلاتوكسين ب₁ تكون أكثر سمية منه؛ مثال ذلك $AFB_1 - 8,9\text{-oxide}$ ، والذي ينتج عن طريق أكسدة الأفلاتوكسين ب₁؛ مما يؤدي إلى زيادة سميته.

وبمجرد أن يتكون مركب $AFB_1 - 8,9\text{-oxide}$ فإنه يرتبط برابطة تساهمية مع قاعدة الجوانين *guanine* في الحمض النووي *DNA*. وقد تعمل آلية إصلاح الحمض النووي *DNA* على إصلاح العطب الناتج من هذا الارتباط، ولكن إذا بقي الارتباط التساهمي السابق دون إصلاح، فإن ذلك يؤدي إلى تلف النسخ، وإحداث طفرة.

وهناك ارتباط معنوي بين مثل هذه الطفرات التي تحدث في منطقة محدودة، ينتج عنها تحويل قاعدة الجوانين إلى قاعدة ثيمين في جزء الحمض النووي عند النسخ؛ مما يؤدي إلى حدوث مرض السرطان.

وفي دراسة حديثة أجريت في الصين، شوهدت تورمات الكبد في الإنسان في المناطق الجغرافية التي يزيد فيها معدل تلوث الأغذية بسموم الأفلاتوكسين ب₁ (AFB_1).

كما أوضحت هذه الدراسة إمكانية تثبيط الفعل السام لهذا التوكسين؛ وذلك عن طريق تخليق جميع أنواع الحمض النووي *RNA* (الريبوسومي والمراسلة والرسول)؛ حيث وجد أن المنطقة من الحمض النووي *DNA* - والتي تعمل كصرح لتخليق الحمض النووي *RNA* الريبوسومي - تكون مرتبطة بصفة خاصة بالأفلاتوكسين ب₁ النشط؛ وهذا يؤدي إلى تثبيط تخليق ذلك الحمض النووي الريبوسومي، ومن ثم وقف تخليق البروتين.



شكل (١٤٧) التغيرات الحربية واللاتكسين B_1 وتأثيراتها الضارة على العمليات الحيوية في جسم الإنسان والحيوان (عن Bushy & Wogan, 1979).

سابعاً: التحولات الستيرويدية الفطرية :

أظهر Hench وغيره من الباحثين مع بداية عام ١٩٤٩ أن مادة corticosteroids cortisone وهورمون adrenocorticotrophic hormone (ACTH) يمكن أن تفيد في معالجة مرض التهاب المفاصل الروماتيزمي الحاد (الروماتويد) severe rheumatoid arthritis.

وتعتبر الستيرويدات steroids مجموعة من المركبات العضوية التي تحتوي على نواة بيرهيدرو فينانثرين perhydrophenanthrene nucleus، وتظهر هذه المركبات نشاطاً حيوياً هاماً.

وحيث إن الستيرويدات تختلف فيما بينها من حيث تأثيرها الفسيولوجي، فإنه من الأهمية بمكان أن تغير هذه المركبات من صفاتها الكيميائية؛ وذلك عن طريق تغيير التركيب الجزيئي بغرض إنتاج عديد من المركبات ذات الخواص المتباينة؛ وعلي ذلك فإنه يمكن تخليق نواة الستيرويد، وكذلك إنتاج جميع المركبات التجارية التي يمكن الحصول عليها من مصادرها الطبيعية.

ومن أهم المشاكل التي واجهت الكيميائيين الأوائل كيفية إضافة مجموعة الهيدروكسيل إلى ذرة الكربون رقم ١١، وأيضاً إضافتها لذرتي الكربون رقم ١٧ و ٢١. ولقد تم ذلك -أولاً- عن طريق إضافة الأكسوجين إلى مركب البروجيسترون progesterone في أحد عشر موقعاً عن طريق الفطر *Rhizopus arrhizus*. ولقد كان الناتج قليلاً، إلا أنه عند استعمال نوع آخر من الفطر السابق (*R. nigricans*) وصل الإنتاج إلى حوالي ٨٥-٩٥٪ من مركب 11- α -hydroxyprogesterone. وهناك مدى عريض من الأحياء الدقيقة يمكنها تحويل الستيرويدات، إلا أن الفطريات تلعب دوراً هاماً متميزاً في هذا المجال؛ كما هو واضح في جدول (٣٠).

جدول (٢٩) : أمثلة لبعض الفطريات المستخدمة تجارياً في التحولات الحيوية.

(عن Wainwright, 1992)

أنواع الفطريات	نوع التحول
<i>Rhizopus nigricans</i> <i>Curvularia lunata</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Aspergillus ochraceus</i>	Steroids الستيرويدات Progesterone → 11α - hydroxyprogesterone Compound S → Cortisol Progesterone → 1,4 androstadiene 3,17 - dione Progesterone → 11α - hydroxyprogesterone
<i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Cephalosporium sp.</i> <i>Emericellopsis minima</i> <i>Trichophyton mentagraphytes</i> <i>Fusarium avenaceum</i> <i>F. conglutinans</i> <i>F. semitectum</i> <i>Pleurotus ostreatus</i>	Antibiotics المضادات الحيوية بنسلين V Penicillin V Phenoxymethyl penicillin → 6 - amino penicil- lanic acid (6- APA)

جدول (٣٠) بعض ظروف الإنتاج المستخدمة في التحولات الحيوية للمسترويدات. (عن Crueger &

(Cruger 1990)

ظروف الإنتاج	اسم الفطر	المنتج	مادة التفاعل
٧٢ ساعة / ٢٥°م	<i>Cylindrocarpon radiocola</i>	1- Dehydrotestololactone	Progesterone
٩٦ ساعة / ٢٥°م	<i>Fusarium solani</i>	1,4- Androstadiene- 3,17- dione	Progesterone
١٢٠ ساعة / ٢٨°م	<i>Aspergillus ochraceus</i>	11- α- Hydroxy- progesterone	Progesterone
٩٦ ساعة / ٢٨°م	<i>Rhizopus arrhizus</i>	11-α- Hydroxy- 4- androstene- 3,17- dione	4- Androstene- 3,17- dione

ومن الناحية التطبيقية، فإن معظم التحولات الحيوية الهامة للستيرويدات التي تقوم بها الفطريات تعتمد على تخليق هرمونات الأدرينوكورتيكال -adrenocortical hormones وإضافة مجموعة الهيدروكسيل إلى ذرات الكربون في الوضع ١١ و ١٧ و ٢١.

ويمكن للفطريات أن تقوم بتحويلاتٍ مختلفٍ لأنواع الستيرويدات، بما فيها عملية الهدرجة hydrogenation، ونزع الهيدروجين dehydrogenation، وإضافة مجموعة الهيدروكسيل hydroxylation، بالإضافة إلى الأكسدة لتكوين روابط إيوكسي epoxidation، ونزع السلسلة الجانبية side-chain cleavage، بالإضافة إلى تحوّل غير معتادٍ يتم خلاله تمدد الحلقة الخماسية لنواة الستيرويد the five-membered ring of the steroid nucleus؛ حيث تتحول إلى حلقة سداسية six-membered ring.

ومن أمثلة عمليات التحول (جدول ٣١) مايلي:

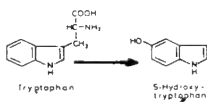

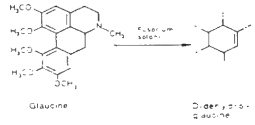
- ١- اختزال الرابطة المزدوجة في الوضع ٤-٥ و ١٦-١٧، واختزال مجموعة الكيتون؛ حيث يتم ذلك عن طريق الفطر *Epicoccum oryzae*.
- ٢- نزع مجموعة الهيدروجين dehydrogenation في الستيرويدات من الوضع ٢، ١؛ حيث يتم ذلك عن طريق الفطر *Fusarium solani*.
- ٣- إضافة مجموعة الهيدروكسيل؛ حيث يعتبر ذلك أهم تفاعلات تحوّل الستيرويدات. ولقد سبق الإشارة إلى أن هذا التفاعل يتم في الوضع ١١ و ١٧، وبالإضافة إلى ذلك فإنه من الممكن أن يتم في الأوضاع ٦، ٧، ٨، ٩، ١٠، ١٤، ١٥، ١٦.
- وفي بعض الحالات يمكن أن تحدث إضافة مجموعة الهيدروكسيل في أكثر من موقع؛ مثال ذلك إضافة الهيدروكسيل إلى البروجستيرون progesterone في الوضع ٦ و ١١ بواسطة الفطر *Rhizopus arrhizus*.
- ٤- تفاعل الأكسدة لتكوين روابط إيوكسي epoxidation الذي يمكن حدوثه في

الستيرويدات المحتوية على رابطة زوجية منعزلة *isolated double bond*؛ وذلك بواسطة الفطر *Curvularia lunata*.

٥- انشقاق السلاسل الجانبية الثنائية الكربون من الستيرويدات المحتوية على ٢١ ذرة كربون C-21 steroids وذلك عن طريق أنواع مختلفة من الفطريات؛ مثل *Aspergillus flavus*، و *Penicillium lilacinum*.

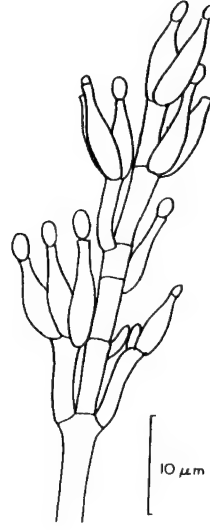
٦- وفي النهاية، فإن أكثر هذه التحولات -التي من غير المعتاد حدوثها- تمدد حلقة الستيرويد الخماسية five-membered steroid ring إلى سداسية six-membered ring. ومن أمثلة ذلك تمدد المركب 17- α -hydroxysterone بواسطة الفطر *Aspergillus niger*.

جدول (٣١): أمثلة لبعض التحولات الحيوية المستخدم فيها الفطريات.

نوع التفاعل	اسم الفطر	مثال
Hydroxylation إضافة مجموعة هيدروكسيل	<i>Aspergillus clavatus</i> <i>Mucor spinosus</i> <i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Rhizopus nigricans</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Cunninghamella elegans</i>	
Epoxidation أكسدة لتكوين روابط ايوكسي	<i>Rhizopus nigricans</i> <i>Cunninghamella elegans</i>	
Dehydration of -CH-CH- نزع الهيدروجين	<i>Fusarium solani</i>	

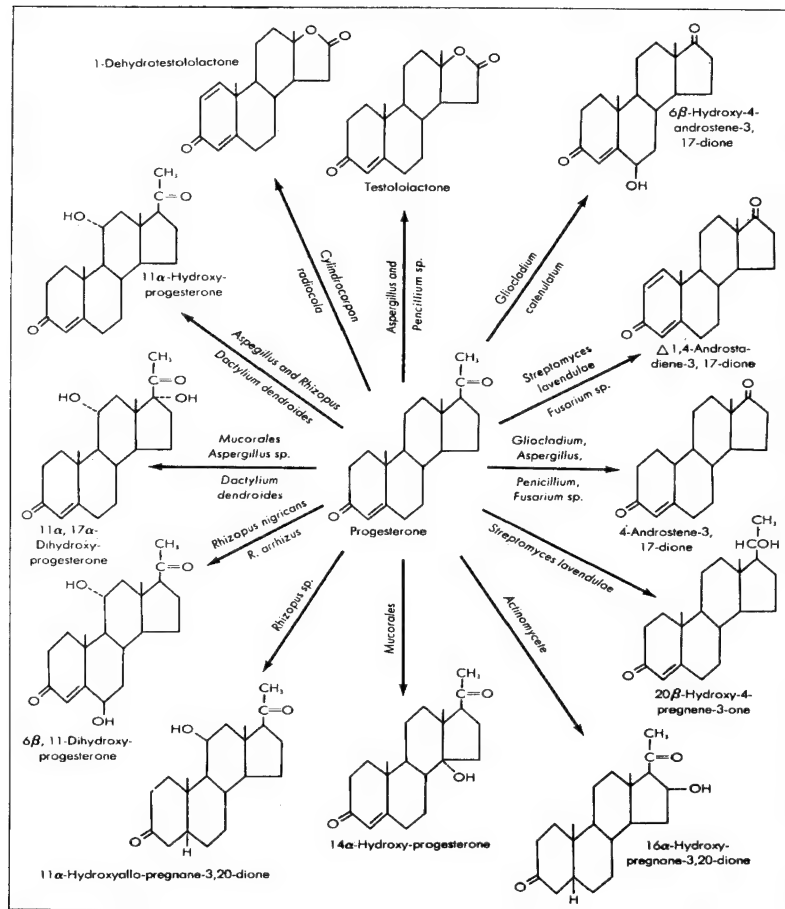
<p>p-chlorobenzyl benzoate</p> <p>Phenylacetic acid</p>	<i>Candida albicans</i>	أكسدة السلسلة الأليفاتية الجانبية وتكوين الألدهيدات أو الكيتونات أو مجاميع الكربوكسيل
<p>2-methyl-2-phenylpropanoic acid</p> <p>2-methyl-2-phenylacetic acid</p>	<i>Candida albicans</i> <i>Fusarium solani</i> <i>Rhizopus arrhizus</i> <i>Rhizopus nigricans</i>	أكسدة لتكسير مجاميع الاكيل الجانبية
<p>10H-D-methoxy-ascorpine</p> <p>Isoscorpine</p>	<i>Cunninghamella blackeana</i>	أكسدة لفصل بعض المجاميع مثل مجاميع الميثيل أو الامين
<p>Benzyl alcohol</p> <p>Benzaldehyde</p>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Kloeckera magna</i> <i>Pichia farinosa</i>	اختزال مجاميع الكربوكسيل
<p>α,β-unsaturated carboxylic acids</p> <p>Saturated carboxylic acid</p>	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Penicillium decumbens</i>	إضافة الأيدروجين للعلاقات الزوجية بين ذرات الكربون
<p>$R_1, R_2 = CH_2COOH$</p> <p>Methylglucopyranoside derivative</p>	<i>Rhizopus sp.</i> <i>Aspergillus niger</i>	تكوين الجليكوزيدات

شكل (١٤٨) : الفطر *Penicillium lilacinum*.
رأس كونيدي يحمل قارورات تخرج
منها كونيديات فردية.



وفى عام ١٩٦٢، حصل الباحث (Knight) على مركب ١١- ألفاهيدروكسيل $11-\alpha$ -hydroxyl، الذى اشتق من البروجيستيرون progesterone؛ وذلك باستعمال كونيديات الفطر *Aspergillus ochraceus*، بينما يتم حالياً تحولات الستيرولات باستخدام الجراثيم الفطرية أكثر من استخدام الميسليوم الفطرى. ويوضح شكل (١٤٩) بعض تحولات البروجسترون بواسطة الكائنات الحية الدقيقة.

ويتم تحول الستيرويد عن طريق إنماء الفطر فى بيئة فقيرة فى محتواها الغذائى؛ مما يقلل من المشاكل الناتجة عن الإفرازات الفطرية. وفى نهاية مرحلة النمو الفطرى، أو بعد إضافة الجراثيم مباشرة، يضاف الستيرويد المراد تحويله؛ وذلك بعد إذابته فى قليل من محلول الإذابة الخالى من مصدر نيتروجينى.



شكل (١٤٩) بعض تحولات البروجسترون بواسطة الكائنات الحية الدقيقة.

ونظراً للسمية النسبية العالية للمذيب المستخدم، فإنه عادةً ما يضاف بنسبة ٠,٥-٢ جرام لكل لتر من السترويد المراد تحويله. وتستغرق هذه المرحلة حوالى ٢٠-٤٠ ساعة، ثم يستخلص -بعد ذلك- السترويد الجديد الذى تم تحويله؛ وذلك بواسطة مذيبات غير قابلة للامتزاج مع الماء water-immiscible solvents؛ مثل الكلوروفورم.

وهناك طريقة أخرى بديلة، يتم فيها إنماء الفطر لتكوين كتلة حيوية كبيرة من النموات الفطرية، ثم تضاف هذه الكتلة الحيوية biomass إلى السترويد المراد تحويله. وتؤدي هذه الطريقة إلى إنتاج كمية كبيرة من السترويد المتحول.

وفى النهاية، يمكن تحويل الستيرويدات باستعمال الخلايا أو الإنزيمات المسكنة على أعمدة جيل البولى أكريلاميد polyacrylamide gel columns، والتي فيها يستعمل إنزيم مناسب أو فطر؛ مثل *Curvularia lunata*. ويتم إمرار محلول السترويد من أعلى العمود؛ حيث يمر خلال الجيل ويتم تحويله إلى السترويد المرغوب، ويجمع المحلول الناتج بعد مروره خلال العمود.

ثامناً: التحولات الحيوية للمركبات الأخرى الفعالة علاجياً:

لقد أدى النجاح في استخدام الفطريات لتحويل الستيرويدات إلى معاملة مماثلة لمركبات أخرى فعالة علاجياً *pharmacologically active compounds*؛ مثال ذلك المواد المضادة للتورمات الموجودة طبيعياً؛ مثل مادة الأكرونين *acronine*، وكذلك قلويدات الفينكا *Vinca alkaloids* التي أمكن تحويلها كيميائياً - باستخدام بعض الأنواع التابعة للفطر *Aspergillus* - إلى مشتقات أقل سمية، ولكنها مازالت محتفظة بفعاليتها.

ومن ناحية أخرى أمكن تحويل مادة اللوكانثون *lucanthone* - وهي مادة قاتلة لديدان البلهارسيا *schistosomicidal agent* - إلى صور أخرى عديدة فعالة؛ وذلك عن طريق الفطر *Aspergillus sclerotiorum*.

ويعتبر استخدام الفطريات في تحويل مثل هذه المركبات الفعالة ذا أهمية اقتصادية عالية؛ وذلك للحصول على مركبات متخصصة من الصعب الحصول عليها، سواء كيميائياً، أم من مصادرها الطبيعية.

تاسعاً: الاستخدامات الطبية للإنزيمات الفطرية :

تعتبر الفطريات منتجات هامة للإنزيمات؛ وذلك على نطاق صناعي، ولهذه الإنزيمات الفطرية تطبيقات طبية عديدة؛ فعلى سبيل المثال تستعمل إنزيمات الأميلاز المقاومة للأحماض acid-resistant amylases المنتجة بواسطة الفطر *Aspergillus oryzae*، وإنزيمات السيليولاز cellulases المنتجة بواسطة الفطر *Trichoderma viride*؛ وذلك بغرض هضم المواد العضوية، بينما تستخدم الإنزيمات الفطرية المحللة للبروتين fungal proteases في علاج عسر الهضم.

وكذلك الحال في الإنزيمات الفطرية المحللة للدهون fungal lipases المنتجة بواسطة الفطر *Aspergillus oryzae*، وفطر الخميرة *Candida lipolytica*؛ والتي تستعمل لتعويض نقص إفراز الإنزيمات المحللة للدهون من البنكرياس في الإنسان.

ومن الأمثلة الأخرى للإنزيمات الفطرية المستخدمة في الصناعات الغذائية، إضافة الإنزيم المحلل لسكر اللبن (اللاكتوز) المفرز من الفطريات fungal lactase إلى منتجات الألبان؛ وذلك لخفض رد الفعل الناتج من الحساسية المفرطة لللاكتوز؛ وهي حالة تحدث -عادة- في بعض دول العالم.

وفي هذه الحالة يلاحظ أن الأطفال لا يتحملون -عادة- اللبن؛ وذلك ناتج من نقص إنزيم B-galactosidase. وعند إضافة الإنزيم الفطري المحلل لهذا السكر إلى اللبن، يمكن حل هذه المشكلة؛ حيث يتم التحليل المائي لسكر اللاكتوز في معدة الأطفال، ثم يمتص، بدلاً من تخمره إلى غازات تسبب هذه المشكلة.

وتستعمل الإنزيمات الفطرية -أيضاً- في معالجة الجلطات الدموية blood clots،

ولخفض نسبة تسوس الأسنان. وتعتمد فاعلية الإنزيمات الفطرية في تقليل تسوس الأسنان على الحقيقة التي تقول إنه قبل أن تتحلل الأسنان، تبدأ الديسكترينات البكتيرية bacterial dextrins في الترسيب على سطح الأسنان. ويمكن -نظرياً- تثبيط هذه المواد عن الترسيب؛ وذلك عن طريق الإنزيمات الفطرية المحللة لها التي تفرزها بعض الفطريات؛ مثل الفطر *Penicillium fumiculosus*.

وفي النهاية، يستعمل إنزيم أكسدة أملاح اليورات urate oxidase؛ الذي ينتجه الفطر *Aspergillus flavus* في علاج مرض النقرس gout؛ حيث إن هذا الإنزيم يساعد على منع تكوين بلورات حمض اليوريك.

عاشراً: القيمة الطبية للفطريات الراقية:

انحصر معظم اهتمام العالم - حتى نهاية القرن العشرين - بقدره الفطريات الهيفية filamentous fungi فى إنتاج المركبات ذات الأهمية الطبية medically important compounds، وخاصة المضادات الحيوية، بينما كان الاهتمام بالقيمة الطبية للفطريات الراقية - خاصة فطريات عيش الغراب - محدوداً.

ولقد نالت بعض فطريات عيش الغراب شهرة محلية فى بعض دول العالم ذات الحضارة القديمة، وخاصة فى دول شرق آسيا؛ مثال ذلك فطر عيش غراب المايتاكي maitake mushroom (أنواع من الجنس *Grifola*) وفطر عيش غراب الثقوب (أنواع تابعة للجنس *Polyporus*).

والأنواع السابقة من فطريات عيش الغراب الطبية تتبع عائلة فطريات عيش الغراب الثقبية Polyporaceae، والتي تعرف باسم الفطريات الرفية bracket fungi؛ والتي تضم أنواعاً من الفطريات المفيدة طبيياً؛ مثل الفطر *Grifola frondosus*، و *G.umbellata*، و *G.gigantea*.

ويمتاز فطر عيش غراب المايتاكي بعددٍ من المميزات؛ مما يجعله عظيم القيمة الطبية؛ فعلى سبيل المثال يحتوى هذا الفطر على مادة مخفضة لضغط الدم -hypoten-sive substance تعمل أيضاً على خفض مستوى الكولسترول فى الدم؛ وذلك على فئران التجارب، ولكن هذه النتائج الطبية المشجعة تبشر بإمكانية استخدامه مع الإنسان فى المستقبل القريب.

وينتج الفطر *Grifola confluens* المضاد الحيوى جريفولين grifolin، بالإضافة إلى مدى عريض من مختلف المواد المضادة للورومات antitumour agents؛ حيث يتم

الحصول عليها باستخلاص الأجسام الثمرية للفطر، وأيضاً من البيئة السائلة التي ينمو عليها الميسليوم الفطري للأنواع المختلفة التابعة لهذا الجنس.

والمادة الفعالة في هذا الفطر عبارة عن جلوكانات glucans؛ وهى واحدة من المكونات الرئيسية للجدر الخلوية الفطرية. ويبدو أن هذه المركبات تعمل على حث المقاومة في جسم الإنسان ضد تكوين التورمات من خلال تشجيع تكوين الإنترفيرون interferon؛ مما يؤدي إلى قتل خلايا التورمات في أماكن تواجدها.

ويمكن استخلاص الجلوكانات المضادة للتورمات antitumour glucans من الأجسام الثمرية لفطريات عيش الغراب التابعة للجنس *Grifola*، وكذلك من ميسليوم الفطر وأجسامه الحجرية؛ وذلك باستخدام الماء وكربونات الصوديوم وهيدروكسيد الصوديوم.

ولقد منحت براءة الاختراع في اليابان لبعض العقاقير الطبية المحتوية على جلوكانات الفطر *Grifola*؛ مثال ذلك Nippon Beet Sugar الذي يعرف باسم (GF-1). ويتميز هذا العقار بتثبيط نشاط الجسم في تكوين الأورام؛ حيث اختبر على فئران التجارب المصابة بعدوى «سرطان النسيج الضام sarcoma-180».

ومن ناحية أخرى أمكن إنتاج سكرياتٍ طبيةٍ معقدةٍ medical polysaccharides ومواد تزيد من قوام الأغذية food thickeners من الهيفات والأجسام الثمرية الجافة لفطر عيش الغراب *Grifola frondosus*.

حادى عشر: بعض الاستخدامات الطبية المتنوعة للفطريات:

تستعمل بعض الفطريات الهيفية -مثل بعض الأنواع التابعة للجنس *Aspergillus*- وبعض أنواع الخمائر فى إنتاج الليفانان *levans*؛ التى تستخدم -بعد تحليلها مائياً وتنقيتها- فى إنتاج مادة بديلة لبلازما الدم. وتستخدم هيفات بعض الفطريات فى عمل ضمادات لعلاج الجروح والإسراع بشفائها؛ حيث يتم ذلك عن طريق إنتاج مادة ليفية *fibrous material* من *Mucor mucedo* الفطر أو الفطر *Rhizom- ucor miehei*. ويعامل الميسليوم الفطرى بالكحول؛ لإظهار المكونات الأساسية للجدر الخلوية من الشيتين والشيتوسان. ويراعى عند استعمال هذه الضمادات الهيفية الفطرية على الجروح أن تكون رطبة؛ مما يعجل بشفاء الجرح.

ويمكن استعمال فطريات الخمائر فى إنتاج كميات محدودة من مادة *selenome-thionine*؛ وهو مركب يصعب تخليقه؛ حيث يستعمل فى المسح الإشعاعى *radioi-sotope scanning* للبنكرياس. ويتم إنتاج هذه المادة بإنماء فطر خميرة الخباز *baker's yeast* على بيئة قليلة فى محتواها من الكبريت؛ حيث يضاف إليها $H_2^{75}Se O_3$ ، ثم تترك عملية التخمر لمدة ٢٤ ساعة، وبعد ذلك تحلل خلايا الخميرة مائياً للحصول على مادة *Selenomethionine*.

وتظهر بعض المواد الناتجة من التمثيل الغذائى للفطريات نشاطاً ملحوظاً فى النواحي الصيدلية *pharmacological activity* على حيوانات التجارب. ومعظم هذه المركبات ذات استخدامات طبية؛ فعلى سبيل المثال لاحظ *Mc Nutt* عام ١٩٢٨ أن إناث الخنازير التى تتغذى على علف ملوث بفطريات العفن -مثل بعض الأنواع التابعة للجنسين *Gibberella* و *Fusarium*- تعرضت لتشوه فى نموها؛ حيث تضخمت الغدد الثديية *mammary glands*، وحدث هبوط للمهبل والمستقيم عن موضعيهما

الطبيين. ولقد أثبتت هذه الدراسة أن المادة الفعالة عبارة عن مادة أوستروجينية - oes-trogenic material .

ولقد شوهد مثل هذا التأثير الراجع إلى الأوستروجين oestrogenic response في بعض حالات التسمم الفطري بالتوكسين زيرالينون zearalenone .

ومن ناحية أخرى، أثبتت نتائج الأبحاث أن للمضاد الحيوى باتيولين patulin -والذى ينتج بوفرة بواسطة عديد من الفطريات الهيفية، وخاصة الفطر *Penicillium patulum* - فاعلية مضادة للتقلصات antispasmodic activity ، كما يمكنه إيقاف انقباضات القولون contraction of colon .

وهناك مضاد حيوى آخر، وهو الجريسيوفولفين griseofulvin -الذى ينتجه الفطر *P.griseofulvum* - وهو ذو تأثير مضاد للالتهابات anti-inflammatory effect ؛ حيث يستخدم في إسعاف المرضى الذين يعانون الذبحة الصدرية pectoris .

ومن الأمثلة الأخرى للاستخدامات الطبية للمواد المنتجة من الفطريات، مادة سلافرامين slaframine المنتجة بواسطة الفطر *Rhizoctonia leguminicola* ، والتي تسبب زيادة إفراز اللعاب في الماشية، وهي فعالة في تنشيط البنكرياس، والغدد الخارجية exocrine glands .

الباب الحادي عشر

بعض الاستخدامات الصناعية الحديثة للفطريات

بعض الاستخدامات الصناعية الحديثة للفطريات

يزداد استخدام الفطريات فى النواحي الصناعية يوماً بعد يوم؛ حيث تتفتح مجالات شتى للاستفادة من هذه الفطريات بعيداً عن تلك الاستخدامات التقليدية المعروفة فى التخمرات المتنوعة.

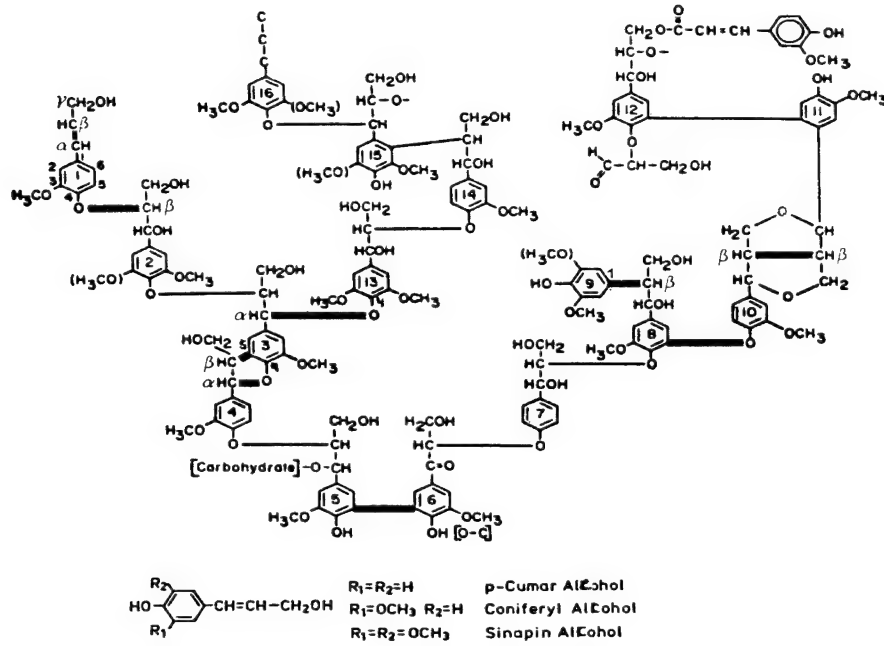
ومما لاشك فيه أن صناعة التخمرات هى أكبر وأهم التقنيات الحيوية التى تستخدم فيها أنواع متباينة من الفطريات فى النواحي الاقتصادية، ومع ذلك فإنه لوحظ -فى الآونة الأخيرة- زيادة اهتمام الباحثين والعاملين فى مجال الفطريات للبحث عن استخداماتٍ حديثةٍ ومبتكرةٍ للفطريات فى النواحي الصناعية.

وعلى الرغم من هذا السباق العلمى العالمى، فإن كثيراً من الأبحاث الجيدة مازالت حبيسة المعامل، وبعضها مازال فى طور التجارب، ولم يصل بعد إلى مرحلة التطبيق التجارى على نطاقٍ واسعٍ. إلا أن المستقبل القريب -ونحن على مشارف القرن الحادى والعشرين- يحمل لنا عديداً من الاستخدامات المفيدة للفطريات فى شتى نواحي الحياة.

١- استخدام فطريات العفن الأبيض فى صناعة الورق:

يُنتج النبات كمياتٍ هائلةً من السليلوز والخشب كل عام، يتراكم بعضها دون استخدامٍ مسبباً مشاكل بيئيةً متنوعةً، على الرغم من أن هذه المواد الليجنوسيليلوزية ذات قيمةٍ عاليةٍ كمصدرٍ للطاقة، وكمادةٍ خامٍ لعديدٍ من الصناعات المفيدة.

ويتركب الخشب من ثلاثة مكونات رئيسية؛ هي: اللجنين، والسيليلوز، والهيميسيليلوز. وقد يتحد السيليلوز واللجنين فيكونان مواد لجنوسيليلوزية معقدة صعبة التحلل. ويعتبر السيليلوز معقداً من الجلوكوز المرتبط بروابط 4 و 1 و 3، كما يعتبر الهيميسيليلوز معقداً من مختلف السكريات الخماسية والسداسية مثل الزيلائات xy- و lans والمانانات mannans، بينما يعتبر اللجنين مركباً شديداً التعقيد من فليل بروبان phenyl propane بالإضافة إلى عديد من الكحولات (شكل ١٥٠). وتحتوى المواد النباتية على نسب مختلفة من السيليلوز والهيميسيليلوز واللجنين.



شكل (١٥٠) نموذج لتركيب اللجنين.

ولعل مشكلتنا مع هذه الكميات الهائلة من المواد النباتية المتراكمة فى الطبيعة هى كيفية الاستفادة منها بطريقة اقتصادية؛ وهنا تظهر الفطريات كأحد الحلول المثالية النموذجية.

فعندما تنمو الفطريات على مثل هذه المواد النباتية، فإنها تحلل السيليلوز والهيميسيليلوز إلى جلوكوز وسكريات أخرى، يسهل استخدامها فى عديد من التخمرات الصناعية؛ لإنتاج مواد أخرى ذات قيمة اقتصادية عالية، وأيضاً يمكن إنتاج مواد تصلح كعلف للحيوانات.

ولقد نجح الإنسان فى الاستفادة من الفطريات المحللة للخشب، وأنتج منها بروتيناً ميكروبياً single cell protein، أمكن استخدامه كغذاء بروتينى، وخاصة فى الدول التى تعاني نقص البروتين فى غذائها؛ مثال ذلك: زراعة فطريات عيش الغراب. وكذلك أمكن إنتاج أحماض عضوية ذات قيمة صناعية عالية، وكحولات استخدمت كوقود حيوى فى كثير من دول العالم.

ويعتبر الزيلوز هو السكر الرئيسى الناتج عن تحليل الهيميسيليلوز؛ وهو يستخدم حالياً كسكر خماسي تنمو عليه بعض فطريات الخميرة، وتحوله إلى وقود حيوى biofuel. وكذلك الحال فى الزيلوز الذى يمكن تحويله إلى كحول إيثانول بفعل بعض الفطريات الهيفية؛ مثل الفطر *Fusarium oxysporum*.

ومازالت بعض الدراسات تجرى فى جامعة التقنية الحديثة بفنلندا؛ بغرض الاستفادة من السكريات الخماسية -كالزيلوز- فى إنتاج حمض الأيتاكونيك itaconic acid عن طريق الفطر *Aspergillus terreus*.

كما أوضحت الأبحاث قدرة بعض الفطريات على تحليل الفينولات من خلال قدرتها العالية على الأكسدة؛ فعلى سبيل المثال يتميز الفطر *Phanerochaete chrysosporium* بقدرته على إفراز إنزيم lignin peroxidase المؤكسد للجنين. وهناك عديد من الفطريات التى تفرز نفس الإنزيم؛ مثل: *Phlebia radiata*، و *Coriolus versicolour*، وأيضاً فطر عيش الغراب المحارى *Pleurotus ostreatus*.

إلا أن بعض المواد الليجنوسيليلوزية تكون مقاومةً لفعل إنزيمات الفطر المحللة؛ حيث تلعب درجة تبلور السيليلوز الداخل في تركيب هذه المواد دوراً كبيراً في مقاومته لفعل الإنزيم الفطري، وكذلك درجة تلاحق ألياف السيليلوز بعضها مع بعض، وكمية اللجنين المحيط بهذه الألياف السيليلوزية.

ولقد وقف ذلك حائلاً دون استخدام الفطريات المفترزة لمثل هذه الإنزيمات المحللة استخداماً صناعياً. إلا أن اتباع بعض الطرق الطبيعية والكيميائية ساعد كثيراً على تعديل الصفات التركيبية لهذه المركبات الليجنوسيليلوزية الصعبة التحلل.

ومن أكثر الطرق شيوعاً في هذا المجال التعرض للبخار steam explosion process والذي يتم فيه ذلك تحت ظروف ضغط وحرارة مرتفعة، وكذلك استخدام أحماض عضوية؛ مثل حمض الكبريتيك والفوسفوريك، وأيضاً استخدام الصودا الكاوية، ومركب إيثيلين ثنائي الأمين ethylenediamine، وبيوتيل أمين n.butylamine.

ويعتبر ماسبق مدخلنا الحقيقي للاستفادة من الفطريات في إحدى الصناعات الهامة وهي صناعة الورق. وفي هذه الصناعة يتم تجهيز عجينة الورق بالطرق الكيميائية؛ حيث يتم -خلال ذلك- فصل الخشب إلى أليافه السيليلوزية عن طريق إذابة اللجنين. وفي هذه المرحلة يتم تكوين عجينة الورق (لباب الخشب wood pulp)؛ وهي المادة الخام المستخدمة في صناعة الورق.

وخلال مرحلة صناعة عجينة الورق kraft process، يتم غلي الخشب في محلول من كبريتيد الصوديوم sodium sulphide وهيدروكسيد الصوديوم sodium hydroxide؛ حيث تتم خلال ذلك إذابة معظم اللجنين، إلا أنه ينتج من هذه المعاملة مادة تتميز بلونها البني الداكن. وتتم إزالة هذا اللون بواسطة التبييض الكيميائي chemical bleaching؛ وذلك باستعمال الكلور chlorine.

ويعقب المعاملة السابقة بالكلور chlorination الاستخلاص القلوي alkaline extraction؛ الذي يعمل على إزالة معظم اللجنين المتبقى من عجينة الورق un-

bleached kraft pulp. ويلاحظ -عادة- أن بعض الكلور المتبقى في عجينة الورقية يرتبط باللجنين مكوناً مركبات عضوية كلورينية chlorinated organic compounds؛ تسبب تلوثاً للبيئة عند التخلص منها وتسربها إلى مياه الأنهار.

ولتجنب مثل هذه المشاكل البيئية، يمكن استخدام الأكسوجين بديلاً عن مادة الكلور كعامل للتبييض bleaching agent في مراحل إنتاج عجينة الورق، إلا أن الكلور مازال يستخدم في مصانع كثيرة في أنحاء العالم، على الرغم من وجود البديل الحيوى، وهى الفطريات.

فعلى سبيل المثال، يمكن استخدام فطر عفن الأخشاب wood-rotting fungus *Trametes (Coriolus) versicolor* في صناعة عجينة الخشب، دون الحاجة إلى معاملة العجينة الناتجة بالكلور؛ حيث تنتج عجينة ناصعة البياض.

ولقد لوحظ أن العجينة الورقية الناتجة من الخشب الرخو soft wood pulps تكون أكثر صعوبة في تبيضها من العجينة الورقية الناتجة من الخشب الصلب hardwood pulps، إلا أن هذه العجائن الورقية يمكن تبيضها حيويًا باستعمال الفطريات. وعند استعمال الفطر *T.versicolor* يمكن التخلص من حوالى ثلثى اللجنين المتبقى في العجينة الورقية.

ولتحسين إنتاج العجائن الورقية باستعمال الفطريات، يمكن استعمال مستحضرات من الفطريات المحللة للخشب wood-decomposing fungi؛ مثال ذلك الفطر *Tra-metes versicolor*، والفطر *Phanerochaete chrysosporium* على صورة نموات فطرية محملة على مواد رغوية معقدة polyurethane foam. ولعل الفائدة التى تعود على صناعة الورق من هذه التقنية الحديثة هى إمكانية فصل الفطر من عجينة الورق بعد إتمام التفاعل، وبالتالي عدم وجود هيفات فطرية تلوث عجينة الورق المعاملة حيويًا.

ويعيب الطريقة السابقة -برغم مميزات العديدة- احتياج التبييض الحيوى الفطرى

fungal biobleaching إلى وقتٍ طويلي نسبياً. وقد تلعب الأبحاث العلمية الجارية -لتحسين إنتاج العجائن الورقية باستخدام التقنية الحيوية للفطريات- دوراً معنوياً في اختصار الوقت اللازم لإنهاء عملية التبييض الحيوى.

ويمكن استخدام الفطريات فى صناعة الورق فى إحدى مراحلها المبكرة؛ والتي يطلق عليها اسم «صناعة عجينة الورق بطريقة ميكانيكية حيوية **biomechanical pulping**»؛ حيث يتم ذلك عن طريق المعاملة الحيوية الأولية -**biological pretreat**ment للقطع الخشبية المبشورة بفطر العفن الأبيض؛ حيث تؤدي هذه المعاملة إلى توفير الطاقة اللازمة لتفكيك الألياف عن بعضها، كما تحسن من جودة الألياف الناتجة. وتعتبر الطريقة الحيوية أقل تلوثاً للبيئة بالمقارنة بالطريقة الكيميائية -الطبيعية المستخدمة عادة.

ويجب أن تكون أنواع الفطريات المستخدمة فى صناعة لباب الورق قادرةً على تحليل اللجنين، فى حين أن قدرتها على تحليل السيليلوز محدودةٌ للغاية؛ حيث إن السيليلوز هو المكون الأساسى لصناعة الورق. وعادةً ما يتم عزل السلالات الفطرية الناتجة من طفرات غير منتجة للإنزيم المحلل للسيليلوز **cellulase- less mutants**؛ حيث يمكن بذلك التغلب على مشكلة نشاط الإنزيم المحلل للسيليلوز، على الرغم من الحقيقة القائلة بأن مثل هذه الطفرات تظهر انخفاضاً فى نشاطها فى تحليل اللجنين.

وعلى أية حال، أمكن التوصل إلى عزل طفرات لفطريات محللة للجنين وغير محللة للسيليلوز. كما أمكن التغلب على مشكلة العزلات الفطرية المحللة لكلٍ من السيليلوز واللجنين بطريقة بديلة؛ وهى إضافة الجلوكوز إلى مبشور الخشب **wood chips** المستخدم فى صناعة لباب الورق (العجينة الورقية) خلال مراحل التصنيع الأولى؛ حيث تؤدي هذه المعاملة إلى تثبيط نشاط الإنزيمات الفطرية المحللة للسيليلوز.

ويمكن استخدام بعض فطريات العفن الأبيض؛ مثل فطر عيش غراب الشيتاكي **Lentinus edodus** لخفض محتوى الخشب المستخدم من اللجنين، دون الإضرار بمحتواه من السيليلوز. وليس من الضروري إزالة اللجنين تماماً من الخشب؛ حيث

إن إزالة جزءٍ منه تكفى لتسهيل تحويل الخشب إلى عجينةٍ بالطرق الميكانيكية المألوفة. وتؤدي مثل هذه المعاملة إلى توفير الطاقة المستهلكة في هذه المرحلة، كما تحسن من جودة الورق الناتج.

ولقد أمكن تحليل اللجنين تحليلاً جزئياً دون خسارة في السيليلوز؛ وذلك باستعمال عزلاتٍ من طفراتٍ لا تحتوي على الإنزيم المحلل للسيليلوز *cellulase-less mutants* من فطر عيش الغراب الرفي *Polyporus adustus*. ولقد أمكن توفير كثير من الطاقة اللازمة لصناعة العجينة الورقية؛ وذلك بمعاملة مبشور الخشب بالفطر السابق لمدة خمسة عشر يوماً على الأقل.

ومن ناحيةٍ أخرى أمكن استعمال طفرةٍ غير مفرزةٍ للإنزيم المحلل للسيليلوز، تتميز بتحملها للحرارة العالية من الفطر *Sporotrichum pulverulentum*؛ مما أدى إلى خفضٍ معنويٍّ في الطاقة المستهلكة اللازمة لصناعة العجينة الورقية ميكانيكياً. وتحتاج هذه المعاملة إلى حوالي عشرة أيام، موفرةً حوالي ٣٠٪ من الطاقة المطلوبة.

ويتم الحصول على مثل هذه الطفرات الفطرية غير المفرزة للإنزيمات المحللة للسيليلوز؛ وذلك عن طريق تعريض معلقٍ جرثوميٍّ من الفطر للأشعة فوق البنفسجية؛ حتى يتبقى من هذه الجراثيم حوالي ٢٪ فقط محتفظةً بحيويتها، بينما تموت بقية الجراثيم، وبعد ذلك يتم إنماء هذه الجراثيم الحية على بيئةٍ معتمدةٍ تحتوي على السيليلوز الخام *opaque cellulose-containing medium* وذلك لمدة أسبوعين.

وفي نهاية فترة النمو السابقة، تتكون هالات رقيقة حول المستعمرات الفطرية للفطريات المحللة للسيليلوز، بينما لا تتكون مثل هذه الهالات حول المستعمرات الفطرية الأخرى غير المحللة له؛ والتي يتم نقلها على بيئةٍ غذائيةٍ أخرى، ويحتفظ بها كطفراتٍ لعزلاتٍ فطريةٍ غير محللةٍ للسيليلوز *cellulase-less mutant*.

٢- إسالة الفحم *coal solubilisation* :

هناك العديد من الوسائل الكيموحرارية التي يمكن استخدامها في تحويل الفحم الحجري إلى أنواعٍ من المنتجات السائلة والغازية، إلا أن مثل هذه التقنيات تحتاج إلى

حرارة عالية، بالإضافة إلى ضغط مرتفع قد يكون مكلفاً مقارنة بالأسعار الحالية لمنتجات البترول، ومن الصعب تنفيذه.

ولقد كانت هناك محاولات عديدة خلال ستينيات هذا القرن، تهدف إلى استخدام الأحياء الدقيقة لإسالة الفحم في درجات الحرارة العادية والضغط العادي، دون تكاليف إضافية. واعتمدت هذه المحاولات على أن الفحم -وخاصة تلك الأنواع الرديئة منه- يتشابه في تركيبه مع اللجنين؛ ومن ثم فإن الفطريات المحللة للخشب سوف تكون -أيضاً- محللة للفحم بنفس الطريقة وبدرجات متفاوتة.

ومن الناحية الواقعية، فإن الفطريات فعالة في إسالة أنواع الفحم الرديئة، أو تلك التي تعرضت للعوامل الجوية لمدة طويلة، وكذلك التي تمت أكسدتها؛ مثال ذلك الليونارديت leonardite؛ وهو فحم ليجنيت lignit تعرض لعوامل جوية قاسية.

وتظهر الفطريات طريقتين لإسالة الفحم، الأولى تشمل شطر روابط الكربون-الكربون إنزيمياً، بينما تعتمد الثانية على إنتاج مركبات قلوية-alkaline sub-stances.

وهناك مدى واسع من الفطريات التي يمكنها إسالة الفحم؛ حيث تعتبر أنواع فطريات العفن الأبيض المحللة للجنين white rot lignin-decomposing fungal species من أكثر الفطريات في قدرتها على تحليل الفحم المنخفض الجودة low-grade coals؛ والذي يتميز بتركيبه المشابه لتركيب لجنين الخشب.

ويزداد حالياً استخدام هذه المجموعة من الفطريات في شتى نواحي التقنيات الحيوية؛ فعلى سبيل المثال تنتج فطريات العفن الأبيض إنزيمات ligninases و laccases، هذه الإنزيمات تستعمل فوق أكسيد الهيدروجين hydrogen peroxide أو الأكسوجين -على الترتيب- وذلك للانشطار التأكسدي oxidative cleavage لروابط كربون-كربون في السلاسل المستقيمة aliphatic chains؛ وذلك عند ارتباطها بنواة حلقيّة aromatic nucleus.

ويمكن للفطريات إسالة كتل الفحم عند نموها على سطحه، وأيضاً عند نموها

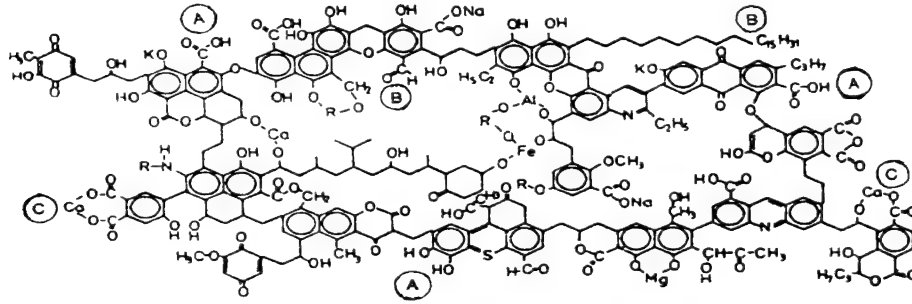
على مسحوق الفحم فى البيئة السائلة submerged culture، وكذلك عند نموها فى مفاعل الطبقة الهائمة fluidised bed reactor.

ولقد وجد Cohen & Gabriele (1982) أن فطر عيش الغراب الرفى *Polyporus versicolor* ينمو على بيئة آجار الليجنيت lignite agar medium، وأيضاً على مسحوق فحم الليجنيت. وينتج عن نمو أنواع فطريات العفن الأبيض - وغيرها من الفطريات المحللة للفحم - على سطوح كتل الفحم قطيرات زيتية صغيرة سوداء اللون (لوحة ملونه رقم ١٥). وعند اختبار هذه القطيرات بطيف الأشعة تحت الحمراء in-frared spectrums، وجد أنها تختلف باختلاف نوع الفطر المستخدم فى التحليل؛ مما يدل على أن الفطريات تستخدم تفاعلات إنزيمية مختلفة enzyme pathways خلال إسلاتها للفحم.

ولقد وجد أن تأثير الفطر *Phanerochaete chrysosporium* على تحويل الفحم إلى الصورة السائلة يمكن تلخيصه فيما يلى (شكل ١٥١):-

- * إنتاج مركبات قلوية - مثل الأمينات - تؤدي إلى معادلة التأثير الحامضى للفحم البنى المحول إلى الصورة السائلة.
- * تعمل إنزيمات الأكسدة المنتجة بواسطة الفطر السابق - مثل إنزيم peroxidase، وإنزيم laccase - على زيادة توزيع الأوكسوجين داخل الهيكل الكربونى؛ مما يؤدي إلى زيادة معدل إذابته، وتحويله إلى الصورة السائلة.
- * تؤثر إنزيمات الفطر على المركبات المخلفية الموجودة فى الفحم، والتي ترتبط ببعض المعادن المشاركة فى تركيب الفحم.
- * تعمل إنزيمات estrases المنتجة بواسطة الفطر على تكسير المواد المشابهة للشموع، والتي تدخل فى تركيب الفحم.
- * تؤثر المركبات التنزيديّة tensides - والتي ينتجها هذا الفطر - على المواد التى تعطى الفحم الصفة الكارهة للماء hydrophobe؛ وبالتالي يتحول الفحم إلى مادة قابلة للإسالة والاختلاط فى الماء.

ويمكن لفطر عيش الغراب الرفي *Polyporus versicolor* استعمال فحم الليجنيت الخام الصلب raw solid lignite، أو المستخلصات القلوية alkaline extracts كمصدرٍ وحيدٍ للتغذية. ويبدو أن المركبات القلوية العضوية القابلة للذوبان alkaline soluble organic compounds تحتجز داخل التركيب البنائي المسامي لفحم الليجنيت؛ مما يدعم النمو الفطري على هذا الفحم (شكل ١٥١)؛ ولذلك فإن تأثير النمو الفطري يكون ناتجاً من إنزيماتٍ خارجيةٍ يفرزها الفطر داخل مسام الفحم.



شكل (١٥١): آلية اسالة الفحم بواسطة الفطريات.

A: المركبات القلوية B: إنزيمات الأكسدة. C: المواد المخيلية.

ولقد فشلت بعض المحاولات التي أجريت بغرض إنماء الفطريات على فحم الليجنيت بمفرده، وربما قد يرجع ذلك إلى غياب بعض البقايا العضوية القابلة للاستفادة بواسطة هذه الفطريات. ولقد تم إثبات ذلك؛ حيث إن حجم الجزء القابل للذوبان في القلوى alkaline-soluble portion من الفحم يتناسب مباشرة مع الجزء الذى تمت أكسدته وتم تعرضه للعوامل البيئية.

وتتم عملية الإزالة الكاملة للفحم في حوالى أسبوع؛ وذلك تحت الظروف المثالية، منتجةً مواد سائلةً تختلف في لونها من الرائق العديم اللون إلى الأسود، محتويةً على خليطٍ معقدٍ من المواد المذابة القطبية الأولية primary polar solutes. هذه المواد المذابة عبارة عن مركباتٍ عضوية ذات وزنٍ جزيئى متوسطٍ أو كبيرٍ، وذات رائحةٍ عطريةٍ.

ويمكن استخدام المواد الناتجة عن إزالة الفحم كمادةٍ أوليةٍ تدخل في مختلف الصناعات الكيميائية، ويمكن تعديلها بواسطة إنماء بعض الأحياء الدقيقة عليها؛ حيث تستخدم بعد ذلك كوقودٍ غازيٍّ أو كوقودٍ سائلٍ بديلٍ لمنتجات البترول. وهناك طريقتان للتطبيقات العملية لمثل هذه الفطريات المسيلة للفحم.

الطريقة الأولى: هى استخدام نظام المفاعل ذى الوسادة الثابتة -fixed bed reactor system، وفيه ينمو الفطر على وسادة ثابتة من الفحم stationary bed of coal تكون معرضةً للهواء الرطب خلال مرحلة نمو الفطر. وينساب الناتج السائل إلى قاع المفاعل، ثم يجمع بعد ذلك.

الطريقة الثانية: يستعمل فيها المفاعل ذو الطبقة الهائمة -fluidised bed reactor؛ وذلك عن طريق عمل معلقٍ من جزيئات فحم صغيرة الحجم في تيارٍ مائى يتدفق من أعلى إلى أسفل upflowing aqueous stream يحتوى على الفطر والعناصر الغذائية اللازمة لنموه.

ويتم إمداد الفطر بالهواء؛ وذلك عن طريق دفعه من قاع المفاعل، بينما تتم إزالة المواد الصلبة؛ وذلك للحصول على المحلول الناتج لمزيدٍ من التعديلات التى يمكن أن تجرى عليه.

الأكسدة الأولية للفحم لزيادة إسالته:

أوضحت الدراسات السابقة أن وجود الفحم في صورة مؤكسدة يجعله في حالة يسهل إسالته؛ فعلى سبيل المثال فإن أسطح قطع الفحم التي سبق تعرضها للعوامل الجوية يسهل إسالته بالمقارنة بقطع الفحم الأخرى البعيدة عن تلك العوامل الجوية. هذه المشاهدات توضح أن قطع الفحم التي تمت أكسدتها بشدة highly oxidised coals تسيل بسهولة.

وبناءً على ماسبق، فليس من العجيب أن نجد أن المعاملة الكيميائية المؤكسدة بدرجة معتدلة mild oxidative chemical treatment تعمل على الإسراع من درجة الإسالة بدرجة كبيرة عن طريق الفطريات وغيرها من الأحياء الدقيقة؛ فعلى سبيل المثال، فإن المعاملة بمحلول فوق أكسيد الهيدروجين hydrogen peroxide أو بحمض النيتريك nitric acid على درجة حرارة الغرفة لمدة حوالي ٤٨ ساعة تحسن بدرجة كبيرة من معدل إسالة الفحم بواسطة الفطريات.

ومن ناحية أخرى، وجد أن استعمال مزرعة مختلطة من عديد من الأحياء الدقيقة -ومنها الفطريات بطبيعة الحال- تزيد من معدل إسالة الفحم بالمقارنة باستعمال الفطريات منفردة. كما أوضحت عديد من الدراسات الأخرى أن بعض الفطريات غير المحللة للخشب -مثل بعض الأنواع التابعة للجنسين *Penicillium*، و *Paecilomyces*- تظهر بعض القدرة على تحليل فحم اللجنيت lignite؛ وذلك تحت ظروف التهوية الجيدة.

ويبدو أن النظام السابق يتضمن إنتاج عامل مساعد قلوي فطريّ متخصص specific fungal alkaline catalyst، بينما توضح الدراسات الحديثة أن الإنزيمات المتداخلة -عادةً- في إسالة الفحم يكون مصدرها هو فطريات العفن الأبيض. وقد تكون العوامل غير العضوية المؤثرة على إسالة الفحم inorganic coal soubilising agents (CSA) مسئولة أيضاً عن إسالة الفحم ضمن هذا النظام.

وعند عزل تلك العوامل غير العضوية CSA المتداخلة في إسالة الفحم بواسطة الفطر *Trametes versicolor*، وجد أنها متطابقة مع مادة أوكسالات الأمونيوم؛ لذا يبدو أن إنتاج أنيون الأوكسالات oxalate anion -فضلاً على الإنزيم- يوضح لنا بجلاء لماذا يمكن لهذا الفطر إسالة الفحم المنخفض الجودة بفاعلية عالية.

٣ - تحول المركبات اللجنوسيليلوزية إلى غازات :

يمكن للفطريات أن تستخدم - أيضاً - في تحليل المركبات اللجنوسيليلوزية -التي تتوافر بكثرة في المواد النباتية- إلى غازات، بالإضافة إلى نواتج أخرى سائلة. ويتم هذا التحول تحت ظروف لاهوائية؛ وذلك عن طريق إضافة الفطريات المحملة للسيليلوز إلى المواد النباتية، ثم تخزينها بعد ذلك في مفاعلات reactors على حرارة ٣٠°C.

ويمكن لبعض الأنواع الفطرية التابعة للجنسين *Curvularia* و *Penicillium* تحويل المادة النباتية إلى غاز الميثان، وإلى مواد هيدروكربونية، وثاني أكسيد الكربون؛ حيث يمكن استعمال هذه النواتج كوقود غازي.

٤ - استعمال الخمائر في إزالة البارافينات والشموع :

طُورت الوسائل التقليدية المتبعة في صناعة البترول؛ وذلك؛ بغرض إزالة البارافينات من المواد الهيدروكربونية deparaffinate hydrocarbons، وفي نفس الوقت إنتاج كتلة حيوية من النموات الفطرية غنية بالبروتين protein-rich biomass عظيمة الفائدة، يمكن استخدامها في عديد من النواحي التطبيقية.

ولقد استعملت نواتج فصل زيت البترول petroleum fractions - بما فيها الكيروسين والديزل وزيتوت تشحيم المحركات - كمواد خام لإنماء فطري الخميرة *Candida lipolytica* و *Saccharomyces cerevisiae*، وغيرها من أنواع الخميرة الأخرى.

وعند إنماء هذه الفطريات على المواد السابقة، أمكن إزالة الهيدروكربونات ذات السلاسل المستقيمة straight-chain hydrocarbons فقط؛ مما سبب انخفاضاً في

نقطة الإنصهار melting point لنواتج فصل البترول، حيث إن ذلك يتيح لنواتج الفصل ذات درجة الغليان المرتفعة high-boiling petroleum fractions استعمالها كوقود ديزل، وأيضاً كزيت تشحيم وسوائل أخرى متحولة.

ومن المعروف أن الطائرات النفاثة التي تطير على ارتفاعات شاهقة تواجه درجات حرارة بالغة الانخفاض؛ وهذا يتطلب استعمال نوع من الوقود يتميز بنقطة غليان تقل عن خمس درجات مئوية. ويمكن إنتاج مثل هذا الوقود باستعمال فطريات الخميرة لإزالة المركبات البارافينية، ويصبح المنتج عبارة من كيروسين لابرافيني deparaffinate kerosene، يتم تقطيره عند حرارة تتراوح بين ٢١٧٠-٢٢٠٠ م.

إن عملية إزالة البارافينات باستعمال الخميرة yeast deparaffination تتضمن تنمية سلالة متأقلمة على التمثيل الغذائي للهيدروكربونات في بيئة سائلة تحتوي على نواتج تقطير بارافينية paraffinic distillate وذلك تحت ظروف تهوية جيدة. وفي نهاية فترة نمو هذه الخميرة يتكون مستحلب من خلايا الخميرة والهيدروكربونات التي لم يتم تمثيلها غذائياً في صورة سائلة. ويتم فصل هذا المستحلب عن طريق الطرد المركزي في وجود مادة نشطة سطحياً surface-active agent؛ حيث تزال عجيبة الخميرة (الكتلة الحيوية) بعد ذلك بواسطة مصفاة، ثم يتم غسلها للتخلص من باقى المركبات الهيدروكربونية.

وكذلك الحال عند تكرير الزيوت النباتية المستخلصة من بعض الخضراوات -vegeta- ble oils؛ حيث يمثل استخلاص الشموع waxes مشكلة خطيرة، ونتيجة لذلك فإن بعض هذه الزيوت المفيدة لم يمكن حتى الآن استغلالها تجارياً.

وعلى الرغم من المشاكل التي سبقت الإشارة إليها، فإنه يمكن إزالة الشموع البارافينية paraffinic waxes وخليط الأسترات للكحولات العديدة الهيدروكسيل-est- ers of higher polyhydric alcohols مع الأحماض الدهنية عن الزيوت بواسطة إضافة الخميرة.

وفي هذه الخطوة تضاف خميرة الخباز *Saccharomyces cerevisiae* مع سكر قابل للتخمر fermentable sugar إلى الزيت المعدني أو النباتي، ثم يرج المخلوط جيداً، ثم يضاف إنزيم الببسين pepsin قبل نهاية مرحلة التقليب agitation step، وبعد ذلك يصفى المخلوط، ويفصل الزيت الخالي من الشمع the wax-free oil عن طريق نقل المخلوط من وعاءٍ إلى آخر decanting.

٥- دور الفطريات في التقنية الحيوية للمعادن:

تستعمل الأحياء الدقيقة -وخاصةً البكتيريا الذاتية التغذية الكيميائية- chemoauto-trophic bacteria- على نطاقٍ واسعٍ في تقنيات المعادن mineral technologies في الأوتة الأخيرة؛ فعلى سبيل المثال تستعمل بعض الأنواع التابعة لأجناس البكتيريا *Thiobacillus* و *Sulfolobus* في الحصول على المعادن من خاماتها؛ حيث تنمو هذه البكتيريا في غياب مصدر الكربون العضوي؛ وذلك باستعمال ثاني أكسيد الكربون بدلاً منه.

وعلى عكس ماسبق، نجد أن الأحياء الدقيقة غير الذاتية التغذية (العضوية التغذية) heterotrophic microorganisms -بما فيها الفطريات- يجب إمدادها بمصدرٍ كربونيٍّ عضويٍّ حتى يمكنها النمو؛ لذلك فإن مثل هذه الأحياء الدقيقة تكون أقل فاعليةً في تحول العناصر، وتستخدم بدرجةٍ محدودةٍ في التقنية الحيوية للمعادن mineral biotechnology.

وعلى الرغم من ذلك، فهناك قليل من الأمثلة لفطرياتٍ تستعمل بنجاح كموامل تآكلٍ حيويةٍ للمعادن bioleaching agents؛ مثال ذلك إمكانية استخدام الفطريات والبكتيريا غير الذاتية التغذية لاستخلاص الحديد من خاماته الغنية؛ مثل: الجوثيت goethite، والليمونيت limonite، والهيماتيت haematite؛ وهي من أكاسيد الحديد المائية. ومعظم الأنواع الفطرية التي اختبرت كانت تابعةً للجنسين *Aspergillus* و *Penicillium*.

ولإتمام عملية استخلاص الحديد، يجب أن يكون رقم حموضة البيئة المستعملة أقل من ٣؛ وذلك لمنع إعادة الأكسدة الكيميائية لأيون الحديدوز المتحرر. ويبدو أن عملية الاستخلاص ترجع إلى تكوين الفطر لحمض الأوكساليك oxalic acid، وحمض الستريك citric acid. ويمكن زيادة معدلات الاستخلاص؛ وذلك بإضافة مصدر كربوني؛ عادة ما يكون في صورة مولاس molasses، أو مخلفات عضوية غنية في الكربون.

وباتباع ذلك الأسلوب، يمكن إزالة الحديد من الرمال المحتوية على حوالي ٠,١٪ حديداً، وكذلك من صلصال الكاولين kaolins الذى يحتوى على ١٪ من الحديد وبذلك يصبح الرمل المعامل مناسباً لاستخدامه فى صناعة زجاج عالى الجودة. ويعمل استخلاص الحديد من الكاولين على تحسين صفاته؛ مما يجعله أكثر مناسبة لتصنيع خزف عالى الجودة ناصع البياض. وأيضاً تؤدي مثل هذه المعاملة إلى إنتاج طين معامل حيوى bioleached clays، يتميز بمقاومته للنار fire-resistant، وثابت حرارياً حتى حرارة ١٦٧٠°م - ١٧٥٠°م؛ مما يجعله مناسباً لصناعة المواد المقاومة للحرارة fireproof materials.

ولقد وجدت كميات كبيرة من سليكات الألومنيوم aluminosilicates فى أمريكا الشمالية وفى أوروبا.. وبعض هذه المواد المترسبة تحتوى على كميات مناسبة من الألومنيوم تجعل عملية استخلاصها ذات قيمة اقتصادية عالية. ونتيجة لذلك، درست بعض الشركات العاملة فى مجال التقنية الحيوية biotechnological companies إمكانية استخدام الأحياء الدقيقة فى استخلاص الألومنيوم من خام سليكات الألومنيوم.

ولقد وجد أن عديداً من الفطريات قادرة على هدم النظام البلورى crystal lattices لسليكات الألومنيوم، مما يؤدي إلى تحرر الألومنيوم. ومن أنشط هذه الفطريات: *Aspergillus niger*، و *Scopulariopsis brevicaulis*، و *Penicillium expansum*. وترتبط قدرة هذه الفطريات على هدم سليكات الألومنيوم بإنتاجها من الأحماض أو

القلويات، والتي تهاجم الصخور المحتوية على هذه المادة عن طريق التحليل الكيميائي. ومن ناحية أخرى، يمكن لهذه الفطريات أن تكون مركبات معقدة **complexing agents**، وبواسطة طرق غير معلومة لنا حتى الآن، تؤدي إلى استخلاص المعدن المرغوب. ويطلق على هذا الأسلوب «التحليل المعقد **complexolysis**».

ويمكن للأنواع الفطرية التابعة للجنس *Penicillium* إذابة حوالي ٧٠٪ من النيكل **nickel** الموجود في خام اللاتيريت المحتوي على السليكات **silicate-bearing laterite ore**؛ وذلك عن طريق إنتاج الفطر لحمض الستريك من الجلوكوز المضاف.

ويحتوي الرماد المتطاير الناتج كأحد مخلفات محطات الطاقة على كميات ضخمة من الألومنيوم، والتي يمكن استخلاصها عن طريق استخدام الأحياء الدقيقة، وذلك باتباع نفس التقنية الحيوية التي سبقت الإشارة إليها؛ وهي إنتاج حمض الستريك. ويمكن للفطر المستخدم -مثل *Aspergillus niger*- إنتاج حمض الستريك في مكان وجوده *in situ*؛ وبذلك يمكن استخدام مثل هذه الفطريات بصورة اقتصادية، وذلك بإنمائها على المخلفات الملوثة للبيئة، مما يحد من خطورة هذه المخلفات على صحة الإنسان والأحياء الأخرى من حولنا.

وتتأثر قيمة خام الحديد بوجود الفوسفات بتركيزات أعلى من ٠,٣٪. ولقد استخدمت بعض الأنواع الفطرية التابعة للجنس *Penicillium* -والتي يمكنها النمو على الجلوكوز- في إذابة الفوسفات غير الذائبة -مثل هيدروكسي أبتيت **hydroxyapatite**- من المادة الخام. ولقد أدى ذلك إلى الحصول على مركب على درجة عالية من النقاء؛ مقارنةً بالمنتج الذي يمكن الحصول عليه باستعمال الأحماض المعدنية. وهناك حالات أخرى يتم فيها استعمال الفطر *Aspergillus niger* لإذابة الألومنيوم والمالتينيز من خاماته الأكسيدية.

وفى دراسةٍ حديثةٍ (Wenzi et al,1990) أمكن استعمال فطريات الخميرة لاستخلاص الزنك والنحاس والرصاص من غبار المرشحات filter dusts؛ حيث وجد أن هذا الغبار الناتج عن مراحل إنتاج النحاس يحتوى على ٥,٨٪ زنكاً و ١١,٣٪ رصاصاً، و ٦,١٪ قصديراً، و ٠,١٪ نحاساً، بالإضافة إلى كمياتٍ مختلفةٍ من عناصر أخرى؛ مثل: الكبريت، والحديد، والنيكل، والزرنيخ، والأنتيمون.

ولقد عُرِلت إحدى وعشرون سلالةً من فطريات الخمائر من بيئاتٍ مختلفةٍ، ووجد أن عزلتين فقط منهما أمكنهما استخلاص أكثر من ٥٪ زنكاً؛ وذلك عند إضافة المادة فى اليوم الأول من فترة التحضين. بينما عند إضافة المادة بعد ثلاثة أيام من التحضين أمكن لثمانى عزلاتٍ من فطريات الخميرة السابقة إذابة نفس كمية الزنك؛ حيث يرجع ذلك إلى تكوين كتلة حيويةٍ كبيرةٍ من الفطر المستخدم.

وفى نفس التجربة السابقة، أمكن التوصل إلى أعلى إذابةٍ (٦٥٪) من الزنك؛ باستعمال خميرة *Brettanomyces lambicus* فى وجود تركيزٍ عالٍ من الجلوكوز. ولقد وجد أن العوامل الفطرية المفرزة the fungal leaching agents المسؤولة عن إذابة الزنك عبارة عن أحماضٍ عضويةٍ -مثل حمض اللاكتيك والستريك- بالإضافة إلى عواملٍ أخرى غير محددةٍ، قد تكون عبارةً عن خليطٍ من الأحماض الأمينية.

ومن ناحيةٍ أخرى، وجد أن أكسدة خام الكبريتيد sulphide ore بواسطة البكتيريا الذاتية التغذية الكيميائية chemolithotrophic bacteria من العمليات التى يمكن الاعتماد عليها فى التقنية الحيوية لاستخلاص العناصر leaching biotechnology. كما أن بعض الأحياء الدقيقة الأخرى غير الذاتية التغذية -كالفطريات- يمكنها القيام بذلك.

فعلى سبيل المثال، يمكن معالجة خامات الكبريتيد بجراثيم فطريات الخميرة والسكروروز فى وعاء إذابة leaching tank يحتوى على ٢٦٪ نحاساً، و ٣٠٪ زنكاً

(وزن/حجم)؛ حيث تتم أكسدة السلفيد بعد حوالي ٢٤ ساعة. ويحتوى محلول الإذابة leaching solution على حوالى ١٠ جرامات من النحاس و ٧ جرامات زنك لكل لتر.

ويمكن لبعض الفطريات الهيفية filamentous fungi أكسدة الكبريتيدات المعدنية metal sulphides، إلا أن كمية ضئيلة من المعدن تذاب فى المحلول؛ وبذلك لا يمكن مقارنة هذه الفطريات الهيفية بالخمائر من ناحية كفاءتها فى الإذابة؛ مما يجعل استخدام الفطريات فى التقنية الحيوية للإذابة leaching biotechnology محدوداً، اللهم إلا فى حالة تراكم المعدن فى الكتلة الحيوية biomass للنموات الفطرية؛ والذى يمكن استخلاصه منها بعد ذلك.

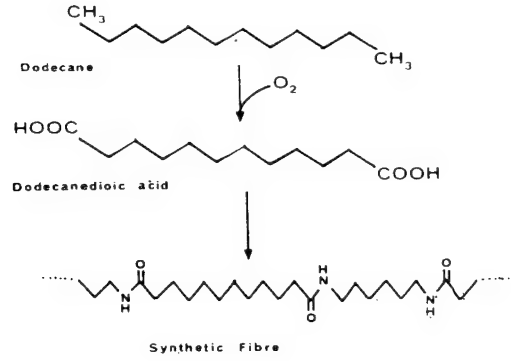
وأيضاً يمكن للميسليوم الفطرى للفطريات *Aspergillus ochraceus* و *Penicilli-um funiculosum* امتصاص اليورانيوم uronium؛ وذلك عند تخضين الفطر فى كيس ديلزة dialysis (كيس يعتمد على ظاهرة الانتشار الغشائى) مغمور فى بيئة جلوكوز بسيطة simple glucose medium؛ تحتوى على صخور مصحونة غنية باليورانيوم powdered uranium-rich ruck. ويتم التراكم الحوى لليورانيوم فى مرحلتى النمو اللوغاريتمى والثابت exponential and stationary phase؛ حيث يحتوى الميسليوم الفطرى على هذا المعدن، ويستخلص منه بعد ذلك.

وعند ترك ميسليوم الفطر *A.ochraceus* فى أكياس مصنوعة من البولى إيثيلين أو من مادة polyvinyl chloride، وغمر هذه الأكياس فى مخلفات تحتوى على اليورانيوم، يزداد محتوى اليورانيوم فى كلى من الميسليوم الفطرى ومحلول الإذابة lea-chate.

ويرتبط عنصر اليورانيوم -بشدة- بالميسليوم الفطرى، ولا يمكن إذابته بالماء أو بمحلول كلوريد البوتاسيوم؛ وبالتالي فإنه من الصعب استخدام الفطريات لاستخلاص اليورانيوم من المواد المحتوية عليه.

٦- إنتاج الأنسجة الفطرية الحديثة Novel fungal textiles:

استخدمت المنتجات الميكروبية - في الآونة الأخيرة؛ كمصدرٍ لصناعة أنواع من الألياف الصناعية synthetic fabrics. ومعظم الأمثلة التي يمكن ذكرها في هذه التقنية تشمل استعمال مركباتٍ معقدة (بوليمرات polymers)؛ مثال ذلك: البولي هيدروكسي بيوتيرات polyhydroxybutyrate، والجينات alginate، والسيليلوز cellulose من أصل بكتيري.



شكل (١٥٢): التحول الحيوي للهيدروكربونات لتكوين أليافٍ صناعيةٍ عن طريق الفطريات.

وهناك فريق بحثي يتبع المجموعة البريطانية للنسيج والتقنية British Textile and Technology Group في مدينة مانشستر، اختبر إمكانية استخدام الفطريات الهيفية لإنتاج الأنسجة. ومن المعروف أن الفطريات تمتلك عدداً من الصفات المميزة تجعل منها مصادر مفيدة لإنتاج الأنسجة؛ مثال ذلك سرعة وسهولة إنمائها، وقدرتها على إنتاج مواد جديدة من جدرانها الخلوية novel cell-wall materials تعتمد على الشيتين chitin، بالإضافة إلى السيليلوز cellulose والكيراتين keratin.

ولقد وجد أن الكتلة الحيوية الفطرية fungal biomass اللازمة لهذا الغرض يجب إنمائها على مواد غير مكلفة أو مخلفات عضوية رخيصة الثمن. وبعد نمو الفطر على مثل هذه المواد داخل المفاعل الحيوى bioreactor، يتم ترشيح بيئة النمو من خلال مرشح ذى ثقب دقيقة fine mesh filter، ثم تغسل النموات الفطرية المحتجزة على المرشح بواسطة الماء؛ وذلك لإزالة بقايا البيئة السابق نمو الفطر عليها.

ويمكن تبيض هذه النموات الفطرية أو معاملتها بمحلول قلوي؛ وذلك بغرض إزالة أية بروتينات غير مرغوبة، ثم يعاد بعد ذلك عمل معلق منها فى الماء. وفى هذه المرحلة يمكن صناعة حشية من نسيج هيفات الفطر fungal mat، سواء النقية أم المخلوطة بألياف أخرى طبيعية؛ مثل عجينة الخشب، أو ألياف صناعية مثل البولى أستر polyester.

وتميل الألياف الفطرية -عند وجودها بصورة منفردة- إلى التقصف، ولكن عند خلطها بألياف أخرى تتكون مادة تشبه الورق paper-like material. ويمكن جعل الألياف الفطرية أكثر مرونة flexible وغشائية membranous بواسطة عملية التلدين plasticising؛ وذلك بإضافة الجليسرول glycerol.

وهناك نموذج آخر للمواد المبتكرة التى يمكن صناعتها من الخيوط الهيفية الفطرية التى يتم تجميعها وتحفيدها لتكون وسادة ماصة absorbent pad. ويمكن مقارنة مثل هذه الوسائد الفطرية بالمواد الأخرى الماصة المستخدمة فى الطب وفى الصحة العامة الشخصية personal hygiene.

ولقد قيمت هذه الوسادات الفطرية على أنها مناشف قابلة للامتصاص absorbent wet wipes، ومواد ممتصة للأيونات المعدنية metal ion absorbents، وضماطات تشفى الجروح wound healing materials، ومرشحات filter materials، وأيضاً جلد صناعى artificial leather.

وتتوقف الاستخدامات التطبيقية لمثل هذه المواد الفطرية -فى الأغراض التى سبقت الإشارة إليها- على انخفاض سعر إنتاجها بدرجة كبيرة. ولعل من أكثر الاستخدامات

الحالية لتلك المواد الفطرية استخدامها كمواد حيوية مدمصة للمعادن - metal biosorbents تستخدم في إزالة المعادن من المحاليل؛ حيث يتوقف ذلك على وجود الشيتين في تركيب الجدار الخلوي للهيفات الفطرية.

وبعد نزع مجاميع الإيثيل من الكتلة الحيوية للفطر، ينكشف التركيب الشيتيني للجدر الخلوية؛ حيث يكون -حينئذٍ- فعالاً في إزالة أيونات المعادن النفيسة؛ (مثل: الذهب، والفضة) من المحاليل. ويمكن تحقيق ذلك بنجاح عند استعمال طبقات عديدة من المواد الفطرية في آن واحد، وإن كان ذلك سوف يقلل من معدل تدفق المحلول، ويزيد من الوقت اللازم لذلك. ويمكن التغلب على هذه المشكلة عن طريق تصنيع نسيج رقيق من البولي أستر المعامل بالميسليوم الفطري.

ولكى تكون لمثل المنتج السابق قيمة اقتصادية، يجب أن يكون استخدامه ممكناً لعدة مرات؛ حيث يمكن ذلك عن طريق غسله -بعد استخدامه- بمحلول مخفف من حمض الكبريتيك dilute sulphuric acid؛ والذي يعمل على إزالة الأيونات المعدنية، ولكنه لا يؤثر في قدرة المرشح على ادمصاص المعادن metal adsorption ability.

وهناك محاولات أخرى تجرى لغزل خيوط من الحوامل الجراثومية من بعض الفطريات الهيفية، إلا أن هذه المحاولات لم يكتب لها النجاح حتى الآن، وذلك راجع إلى طبيعة هذه الهيفات الفطرية الهشة السريعة التقصف.

٧- الفطريات.. ومستقبل البشرية:

ماذا تخفى لنا الفطريات من مفاجآت في المستقبل القريب أو البعيد؟ ربما يكون من الصعب التكهن بذلك ونحن على أعتاب القرن الواحد والعشرين.

ولعلنا لو سألنا أنفسنا نفس السؤال منذ عقود قليلة خلت، ما كنا نتوقع مثل هذا التقدم العلمي في دراسة الفطريات والاستفادة منها في شتى نواحي حياتنا، حتى

يمكن القول إن القرن العشرين هو قرن اكتشاف الفطريات ذات الأهمية الصناعية والتي فاقت في استخداماتها تصور أكثرنا خيالاً.

ويجب ألا نخفل أننا مازلنا نجهل الفطريات، وما نعرفه من أنواع وأجناس لا يتعدى في مجمله ١,٥٪ من إجمالي الفطريات الموجودة على كوكبنا، وحتى هذه النسبة الضئيلة من الفطريات لانكاد نعلم عنها إلا القليل، ومازلنا نكتشف قدراتها وإمكاناتها الحيوية التي تظهرها لنا يوماً بعد يوم.

فلقد عمل الإنسان على تلوث البيئة، وأخل بالتوازن بين الأحياء وبعضها، حتى كاد أن يدمر الكوكب الذي يعيش عليه هو وأجياله التالية، ولم يجد من منقذ سوى الفطريات؛ فبعضها يعيد تدوير المخلفات، وينتج طعاماً لبلايين الأفواه الجائعة بعدما عمّزت مصادر الغذاء التقليدية عن توفير طعام مغذى لها.

واستخدمت الفطريات أيضاً لإزالة سمية المواد السامة والمبيدات والعناصر الثقيلة التي لوثت الأراضي والمياه الجوفية، وأيضاً لتخفيف حدة خطورة الأمطار الحمضية التي قضت على مساحات شاسعة من الغابات في أوروبا - مثل الغابة السوداء في جنوب ألمانيا - وعلى الأسماك ومختلف صور الحياة البرية الأخرى.

وهناك عديد من المشاكل الصحية التي وقف الإنسان عاجزاً أمامها، مثل مرض نقص المناعة الطبيعية للجسم (الإيدز AIDS)، والأورام السرطانية القاتلة، ورفض الجسم لنقل الأعضاء. ولم يحرز الإنسان تقدماً في مثل هذه الحالات - وغيرها - إلا عن طريق أنواع من الفطريات، لم نكن نعلم عنها شيئاً منذ عقود قليلة مضت.

لقد غير البنسلين وجه التاريخ، وهياً الأذهان لاستقبال مزيد من المفاجآت التي تحملها لنا الفطريات يوماً بعد يوم. وما زالت الفطريات تحمل بين جوانحها المزيد الذي تقدمه لنا، حتى نكاد أن نقول أن القرن القادم هو - أيضاً - قرن الفطريات.

فما من صناعة إلا وتعتمد على الفطريات في جزءٍ منها، صغر أم كبر. ولعلنا نذكر دور هذه الفطريات في التخمرات الحيوية، والتي يمكن تشبيهها بمصباح علاء الدين،

الذى -من خلاله- أمكننا تخليق عديد من المواد ذات الأهمية البالغة تخليقاً حيوياً، فى وقت كدنا نعتقد أن ذلك ضرب من الخيال.

كما أزال الفطريات الحواجز بين العلوم وبعضها، فعندما يكتشف عالم الأحياء الدقيقة مضاداً حيوياً جديداً، يسعى عالم الوراثة لإعادة صياغة الحمض النووى الفطرى فيما يسمى بالهندسة الوراثية لكى يحصل على أقصى إنتاج من المضاد الحيوى من سلالة الفطر، ويهتم عالم الكيمياء الحيوية بتركيب المضاد الحيوى، والطبيب بفاعليته، والمهندس بخطط الإنتاج التجارى وهكذا.

ولم يقف استخدام الفطريات عند حدود معينة، بل استخدمت لحل مشكلة توفير طاقة منخفضة التكاليف، مثل إنتاج الكحول الصناعى (الجاسوهول gasohol) من المخلفات العضوية، والتي سبقت الإشارة إليها، إلا أن هناك المزيد.

فلقد ظهر مايمكن أن يطلق عليه اسم بطارية الخميرة yeast fuel cell، والتي تعتمد فى تشغيلها على تحويل طاقة تنفس فطر الخميرة إلى طاقة كهربائية؛ فمن المعروف أنه خلال التنفس تتولد إليكترونات يمكن إمرارها إلى قطب موجب anode لبطارية حيوية، ثم يوصل القطب الموجب بدائرة كهربائية خارجية، ثم بالقطب السالب cathode للبطارية حتى نسمح للتيار الكهربى بالمرور.

ونجحت هذه البطارية الحيوية فى تشغيل آلات حاسبة، وأيضاً ساعات رقمية ولساعات طويلة، ومازال البحث جارياً لتطوير الطاقة الكهربائية التى تنتجها مثل هذه البطارية، وربما أمكن استغلالها -فى المستقبل القريب- لتشغيل جميع الأجهزة المنزلية بمثل هذه البطارية التى تعمل بفطر خميرة الخباز، والتى نأكلها يومياً فى خبزنا.

ليس هذا فحسب، فإن هذه البطارية الحيوية ليست مصدراً جديداً للطاقة فقط، ولكنها تعتمد فى تشغيلها على إنماء فطر الخميرة على المخلفات العضوية، ويعنى ذلك إعادة تدوير هذه المخلفات فيما يفيد، وهكذا تتحول المخلفات بفعل فطر الخميرة إلى مصدر للكهرباء، نستفيد منها فى شتى الأغراض.

واليوم - ونحن نستكشف الفضاء اللانهائى - يزداد احتمال عثورنا على حياة أخرى ربما تشبه مانعرفه من أحياء، وربما يكون مخالفاً لجميع توقعاتنا، حتى أصبح هناك علم قائم بذاته يهتم بدراسة أحياء الفضاء الخارجى exobiology.

وعلى الرغم من أن قطع الصخور التى تم جمعها من سطح القمر والمريخ، وأيضاً تلك القطع المتساقطة من الفضاء لم يظهر بها أى أثر للحياة، إلا أن ذلك لا يقطع باستحالة وجود أحياء ما فى ذلك الفضاء اللانهائى.

فعلى سبيل المثال هناك مناطق شاسعة من قارة أنتاركتيكا Antarctica فى القطب الجنوبي ذات مناخ وظروف بيئية تشابه تلك الموجودة على سطح المريخ، ولكن لم تشاهد أى مظاهر للحياة فى أى منهما. ولكننا نعلم أن هناك أحياء دقيقة تنمو داخل فراغات الصخور الهشة وبين شقوقها فى مناطق أخرى شديدة الشبه بالمناطق السابقة.

إننا لانعلم الكثير، ومازال الكون حولنا يلفه الغموض حتى ونحن على أعتاب القرن الواحد والعشرين. إن الإنسان المتحضر الذى غزا الفضاء، وجعل من الأرض قرية صغيرة بواسطة شبكة الاتصالات العالمية، مازال يحمل فى داخله شعور الإنسان البدائى تجاه عالم الفطريات، فيزداد اندهاشاً وتعجباً من قدراتها الخارقة التى سخرها له الله -سبحانه وتعالى- لخدمته وزيادة رفاهيته، وعليه فقط كشف النقاب عنها.

الباب الثاني عشر

حفظ المزارع الفطرية

حفظ المزارع الفطرية

مقدمة :

من الأهمية بمكان حفظ مجموعة المزارع الفطرية culture collection of fungi المستخدمة في المجالات الصناعية المختلفة في المعامل المخصصة لذلك؛ حيث تكون متوفرة دائماً بصورة نقية وبحالة جيدة تسمح بإعادة استخدامها مرات عديدة كلما لزم الأمر. وحيث إنه يتم استخدام سلالات نقية pure strains من أنواع الفطريات ذات الأهمية الاقتصادية؛ لذا يجب اتباع الدقة عند تجديد مثل هذه المزارع.

وعادةً ما تكون هذه السلالات النقية ذات الأهمية الاقتصادية ناتجةً من عديدٍ من التجارب التي شملت سلالات بل وأنواعاً أخرى من الفطريات؛ بغرض الوصول إلى أفضلها من ناحية نشاطها الحيوى وإنتاجها لبعض نواتج التمثيل الغذائى المرغوبة. وعادةً ما تستخدم عديد من أنواع البيئات الغذائية المختلفة فى مثل هذه الاختبارات؛ وذلك تحت ظروف بيئية متغيرة؛ بغرض الوصول إلى أفضل الظروف الملائمة لنمو مثل هذه السلالات الفطرية وإنتاجها للمواد ذات القيمة الحيوية العالية.

وتتوقف التجهيزات اللازمة لإنشاء معمل لحفظ المزارع الفطرية على حجم العمل ونوعه، ولكن مثل هذه المعامل تشترك فى الطرق المستخدمة والاحتياطات التى يجب مراعاتها لتنقية العزلات الفطرية والاحتفاظ بها بصورة نقية. ويمكن تلخيص أهم العوامل الأساسية اللازمة للحفظ الناجح للمزارع الفطرية فيما يلى:

- * يجب حفظ جميع المزارع الفطرية بحيث تحتفظ بحيويتها لأطول فترة ممكنة.
- * يجب حفظ كل سلالة فطرية على صورة نقية.
- * يجب حفظ كل سلالة أو نوع من الفطريات المراد حفظها بصورة تحفظ لها صفاتها الأولية التي كانت تتميز بها عند ضمها لمجموعة المزارع الفطرية.

١- إنماء المزارع الفطرية:

يعتبر الهدف الأساسي من أى حفظ للمزارع الفطرية هو الاحتفاظ بتلك المزارع الفطرية فى حالة صحية جيدة. وللوصول إلى هذا الهدف، فإنه يجب البدء بمزارع فطرية جيدة تم تحضيرها، سواء من عزلات حديثة، أم باستخدام طرق الإنماء الصحيحة لتلك الفطريات.

وعادة ما يتم إنماء هذه الفطريات -للأغراض التطبيقية- على بيئة الآجار المائل agar slants، ومحاولة البحث عن ظروف النمو المثلى لمثل هذه الفطريات، والتي تعتمد على درجة الحرارة، والاحتياجات الضوئية، والنشاط المائى، والعناصر الغذائية اللازم توافرها فى بيئة النمو، بالإضافة إلى رقم الحموضة pH، وتوافر الأكسوجين والرطوبة.

أ- درجة الحرارة:

تختلف درجات الحرارة المثلى للنمو باختلاف نوع الفطريات المراد إنمائها. ورغم أن معظم الفطريات تنمو بصورة مرضية عند ٢٠-٢٥° (درجة حرارة الغرفة)، إلا أن بعض الفطريات تنمو بصورة أفضل عند درجة حرارة أقل من ٢٠°؛ مثال ذلك بعض الأنواع التابعة لمجموعة *Aspergillus glaucus*، بينما هناك فطريات محبة لدرجات الحرارة المرتفعة thermophilic؛ حيث تكون درجة الحرارة المثلى لنموها أعلى من ٢٥°.

ومعظم المزارع الفطرية تزداد فترة حفظها كلما انخفضت درجة حرارة تخزينها؛

مثال ذلك عند درجة تبريد تتراوح بين ٢٤° و ٢٨°، في حين أن بعض الفطريات المحبة لدرجات الحرارة المرتفعة تفقد حيويتها، وتموت إذا حفظت على درجات الحرارة المنخفضة لفترة طويلة.

ب- الضوء:

تتميز بعض أنواع الفطريات -وخاصة تلك النامية تحت ظروف طبيعية معرضة للضوء - بأنها تتجثم بصورة أفضل تحت ظروف الإضاءة الجيدة، ومن المحتمل أن يتم إنماء غالبية هذه الأنواع الفطرية في المعمل؛ بحيث تكون معرضة لأشعة ضوء النهار. وعلى العكس من ذلك، فإن بعض الفطريات المتربة -وأيضاً عديداً من فطريات التربة- ليست حساسة للضوء. وعلى الرغم من ذلك فإن الفطريات الحساسة للضوء مثل معظم الفطريات الهيفية الداكنة اللون dematiaceous hyphomycetes، وكذلك بعض الفطريات الأسكية، والفطريات التابعة لرتبة سفيريوسيدالات Sphaeropsidales تكون جراثيمها بصورة أفضل في وجود حثٍ إضافيٍّ من الضوء الأسود Black light؛ وهي الأشعة فوق البنفسجية القريبة.

ج- النشاط المائي water activity:

يجب أن يوضع في الحسبان عند إنماء المزارع الفطرية في المعمل أن بعض الأنواع لا تنمو جيداً تحت ظروف الضغط الأسموزي العادي؛ حيث إنها تكون معزولة -عادةً- من بيئة عالية الجفاف، أو ذات محتوى مائي قليل؛ مثال ذلك الفطر *Aspergillus penicillioides*. لذلك يتم إنماء مثل هذه الفطريات على بيئة ذات نشاط مائي قليل؛ مثل بيئة آجار الخميرة والجليسرول (GYA) Glycerol Yeast Agar، أو على بيئة المولت المضاف إليها ٢٠٪ سكروراً.

د- البيئات الغذائية:

يجب أن تكون البيئات المستخدمة في إنماء الفطريات كافية للنمو الفطري دون زيادة تدفعه إلى تكوين جراثيم؛ فعلى سبيل المثال، فإن معظم الأنواع التابعة للجنسين

Aspergillus و *Penicillium* تنمو نموّاً نموذجيّاً على بيئة زابكس، بينما هناك فطريات أخرى تنمو أنواعها بصورة أفضل على بيئة مستخلص المولت.

وهناك بيئات أخرى يتم تصنيعها من مستخلصات الخضراوات؛ مثل البطاطس والجزر، وأيضاً من مخلوط منهما. وتوفر مثل هذه المستخلصات -عادةً- عناصر النمو الهامة للفطريات المراد إنمائها دون أن تسبب زيادة للنمو الهيفي على حساب تكوين الجراثيم.

وتعتبر بيئة مستخلص دقيق الشوفان oat-meal medium، وكذلك بيئة مستخلص دقيق الذرة corn-meal medium، من أفضل البيئات المستخدمة في تنمية الفطريات الهيفية الداكنة اللون dark coloured hyphomycetes؛ حيث تعمل مثل هذه البيئات على زيادة إنتاج الجراثيم دون تكوين مزيد من النموات الميسليومية الهوائية aerial mycelium. وبالإضافة إلى ماسبق فإن الآجار المائي المجهز بقطع من قش القمح أو بقطع من الخضراوات عادةً ما يتم استخدامه لإنماء بعض الفطريات في المعمل.

هـ- رقم الحموضة:

تنمو معظم الفطريات جيداً عند رقم حموضة يتراوح بين ٤-٧، بينما تتحمل بعض العزلات الفطرية رقم حموضة منخفضاً يصل إلى ٢؛ ومثال ذلك الفطر *Aspergillus niger*.

و- الأكسوجين:

تحتاج الفطريات إلى الهواء في نموها؛ لذلك تستخدم سدادات تسمح بتبادل الغازات بطريقة كافية -مثل السدادات القطنية والأغطية غير المحكمة- وذلك في أنابيب الاختبار والدوارق المستخدمة في إنماء الفطريات. إلا أن هناك عدداً قليلاً من الفطريات المائية تحتاج إلى دفع الهواء في محلول البيئة المستخدمة في التنمية؛ حتى يمكنها التجرثم، ولكن مثل هذه الفطريات لا تمثل أهمية صناعية، ولكن أسلوب دفع

الهواء يتبع في محلول تنمية الفطر؛ وذلك خلال مراحل التخمرات الصناعية-indus-
trial fermentations.

٢- طرق حفظ المزارع الفطرية:

أ- إنهاء الفطر:

تعتبر أبسط طريقة لحفظ المزارع الفطرية إنماءها على الآجار المائل، ثم نقلها على سطح بيئة حديثة التجهيز؛ وذلك قبل استهلاك الفطر للعناصر الغذائية في البيئة القديمة أو قبل أن تجف نمواته.

وفي بعض العزلات الفطرية لا توجد طرق أخرى يمكن استعمالها بنجاح لإنماء الفطريات، ولكن معظم الفطريات يمكن إنماءها بوسائل مختلفة، وعلى بيئات غذائية متعددة.

ب- مشاكل تكرار إنهاء المزارع الفطرية:

يتبع تحت الظروف العادية إعادة إنماء المزارع الفطرية على فترات متقاربة دون أن يصادف ذلك مشاكل ما، قد تكون كل أربعة أو ستة أو ثمانية أشهر، إلا أن ذلك يتطلب مجهوداً شاقاً عندما يكون عدد المزارع الفطرية المراد تجديدها كبيراً. كما أن تداول المزارع الفطرية لعدة مرات بغرض تجديدها وإعادة تنميتها يصادفه الكثير من المخاطر؛ من أهمها:

* بعض العزلات الفطرية يتحول نموها الميسليومي إلى خيوط هوائية ضعيفة عقب كل مرة يتم تجديدها؛ وهذا يؤدي إلى ضعف السلالة الفطرية، وربما موتها في النهاية.

* تعرض العزلات الفطرية عند تكرار إعادة نموها لظروف بيئية مختلفة.

* تعتمد القائم على العمل اختيار اللقاح الفطري المناسب؛ لتجديد نمو الفطر من أفضل النماوات الفطرية التي قد تكون لنماوات قديمة؛ لذلك يجب أن تؤخذ في

الحسبان حالة المزرعة الفطرية المنتجة وعمرها عند اختيارها لعمل مزارع فطرية أخرى منها.

* تتعرض المزارع الفطرية عند فتحها - في كل مرة - للتلوث بالأحياء الدقيقة الأخرى أو الإصابة بالآفات التي تهددها مثل الأكاروس وغيره.

٣- طرق حفظ المزارع الفطرية:

لكي نتجنب تداول المزارع الفطرية لعدد من المرات وما يحوط ذلك من مشاكل عديدة، فإنه تجب إطالة مدة حفظ هذه المزارع؛ بحيث تكون الفترات اللازمة لإعادة إنماء الفطر متباعدة قدر الإمكان؛ حيث يتم ذلك بوسائل متعددة؛ منها مايلي:

أ- التخزين المبرد:

تبقى المزارع الفطرية النامية في زجاجات أو أنابيب زجاجية محتفظة بحيويتها وبحالة صحية جيدة لمدة طويلة تصل إلى خمس سنوات إذا خزنت على درجات حرارة منخفضة، سواء في ثلاجة على حرارة ٢٤-٢٨°، أو تحت ظروف التجميد العميق deep freeze على -٢٠°، إلا أن بعض الفطريات البيضية Oomycetes والفطريات المائية water moulds لاتصلح لها هذه الطريقة.

ب- التخزين تحت سطح الزيت oil storage:

قد يتبع - أحياناً - تغطية النمو الفطرية الجيدة بطبقة من زيت معدني mineral (oil) سمكها حوالي سنتيمتر واحد فوق طبقة نمو الهيفات الفطرية؛ حتى يحتفظ بها دون جفافها، ومن أكثر الزيوت المعدنية استخداماً زيت البرافين.

وتتميز طبقة الزيت المعدني بأنها تسمح بانتشار بطيء للغازات؛ وبذلك يستمر الفطر في نموه ولكن بمعدل بطيء. وقد تؤدي هذه الظروف إلى حدوث تغير راجع إلى تأقلم الفطر في نموه تحت طبقة الزيت.

وتظهر بعض العزلات الفطرية ثباتاً في صفاتها وبقائها محتفظة بحيويتها لمدة تزيد

على عشرين عاماً، باتباع هذه الوسيلة من التخزين، كما هي الحال في معهد الكومنولث للفطريات (CMI) Commonwealth Mycological Institute. إلا أن هناك عزلات فطرية أخرى تتغير صفاتها بسرعة، منتجة نموات غير طبيعية خلال شهور قليلة، كما هي الحال في الأنواع التابعة للفطر *Fusarium*.

ويمكن تخزين المزارع الفطرية على درجة حرارة الغرفة، ولكن يمكن الاحتفاظ بحيوية هذه المزارع بصورة أفضل عند تخزينها على درجات حرارة منخفضة؛ حوالي ٢١٥°.

ويعتبر التخزين تحت سطح الزيت إحدى الوسائل المتبعة لإطالة عمر المزارع الفطرية؛ حيث تعيش لفترة أطول؛ وبذلك يمكن إطالة مدة حفظ مزارع الفطريات المائية؛ مثل الفطر *Achlya*، والفطريات التابعة لرتبة الكيتريدالات Chytridales إلى حوالي ١٢-١٨ شهراً بدلاً من الاحتفاظ بها لفترة ٤-٦ أسابيع فقط؛ وبذلك تتم إعادة إنماء الفطر لعمل مزارع جديدة كل ستة شهور بدلاً من كل أربعة أسابيع. ويعيب هذه الطريقة عدم نظافتها، لكنها تتميز بسهولة استخدامها ورخصها.

ج- وقف التمثيل الغذائي:

قد يلجأ العاملون في معامل حفظ المزارع الفطرية إلى وقف التمثيل الغذائي للميسليوم الفطري أو للجراثيم كوسيلة تتبع حديثاً في تجهيز وحفظ الفطر. وتتم إعادة هذا الفطر لنشاطه مرة أخرى بعد ذلك. ومن الطرق المتبعة لوقف التمثيل الغذائي للفطريات التجفيد والتجميد.

※ التجفيد freeze drying :

تعتبر هذه الوسيلة -والتي يطلق عليها lyophilization- أكثر الوسائل الشائع استخدامها، والتي يتم خلالها وقف التمثيل الغذائي للفطر. ويتم ذلك عن طريق تجهيز معلق للجراثيم في بيئة تعليق النمو suspending medium.

ولقد وجد معهد الكومنولث للفطريات -Commonwealth Mycological Institute- أنه من المناسب استخدام بيئة تحتوي على ١٠٪ لبن فرز skimmed milk، و ٥٪ tute

كحول الإينوسيتول inositol في ماءٍ مقطرٍ؛ وذلك لحماية الفطر المرغوب حفظه من تأثير عمليات التجميد.

وتستعمل إنبولات زجاجية صغيرة لحفظ السلالة الفطرية، ثم يتم تجفيفها تحت تفريغ وهي مجمدة. وبعد إتمام المرحلة السابقة يتم إغلاق الإنبولات إغلاقاً محكماً؛ محتفظة بحالة التفريغ الداخلي.

ويفضل بعض العاملين في مجال حفظ الفطريات ملء الإنبولات المستعملة في تجفيد السلالات الفطرية بالنتروجين المعقم قبل إحكام إغلاقها، ويمكن استخدام جهاز بسيط التركيب إذا كان حجم العمل محدوداً، أما في المعامل الكبيرة المتخصصة في إنتاج سلالات فطرية مجفدة بغرض الاستخدام الصناعي، فإنها تستخدم أجهزة متطورة لتفي باحتياج الإنتاج لمثل هذه الفطريات على نطاقٍ واسع.

وتعتبر هذه الطريقة في حفظ الفطريات من الطرق الجيدة الشائعة الاستخدام، حيث إنه من السهل حفظ الأمبولات المجهزة دون كسرٍ ولمدد طويلة تصل إلى عدة سنواتٍ يحتفظ خلالها الفطر بحياته، ويمكنه استعادة نشاطه مرةً أخرى.

وتصل نسبة العزلات الفطرية التي يتم حفظها مجفدة في معهد الكومونولث للفطريات إلى حوالي ٦٠-٧٠٪؛ حيث تشمل هذه العزلات فطريات مكونة لجراثيم بسيطة التركيب.

وعلى أية حال، تصلح هذه الطريقة فقط للفطريات المتجرمة sporulating fungi ولا تصلح - إلا تحت شروط خاصة - لحفظ فطريات الميكوريزا Mycorrhizal fungi. إلا أن بعض الفطريات تفقد حيويتها خلال عملية التجفيد، كما هي الحال في المزارع الميسليومية mycelial cultures للجنسين *Pythium* و *Phytophthora*، وكذلك تلك الأنواع الفطرية ذات الجراثيم الهشة الضعيفة.

* التجميد :

يزداد تخزين الكائنات الحية الدقيقة عن طريق تجميدها cryogenic storage يوماً بعد يوم؛ وذلك على درجات حرارةٍ بالغة الانخفاض؛ حيث أظهرت الفطريات قدراتٍ

عالية على تحمل التجميد دون أن تفقد حيويتها. ومن أقل الفطريات حفظًا بالتجميد فى النتروجين السائل مجموعة *Mastigomycotina*؛ حيث إنها حساسة للتأثير الميكانيكى لعمليات إعداد المعلق.

وتستعمل -عادة- مادة معينة لتعليق نمو الميسليوم الفطرى المراد تخزينه، وهى إما الجلسرول بتركيز ١٠٪ أو داي ميثيل سلفوكسيد (DMSO) *Dimethylsulfoxide*، وبعد ذلك تجمد هذه المزارع الفطرية باستعمال النتروجين السائل فى أوعية خاصة.

ومن أهم العوامل التى تجب مراعاتها فى هذه الطريقة معدل الانخفاض فى درجة الحرارة؛ وهو يختلف باختلاف السلالة الفطرية، فبعضها يحتاج إلى معدل سريع ٥٠-٢١٠/ دقيقة، والبعض الآخر يحتاج إلى معدل بطيء يصل إلى ٤-٢١٠/ دقيقة.

فقد وجد أن عملية إنكماش الخلايا *cell shrinkage* أثناء التجميد هى العامل المحدد لحيويتها أثناء التخزين، وبالتالي فإن السرعة فى التبريد لاتعطى الخلايا الفرصة فى الانكماش، ولذا فإن السوائل الإلكتروليتية الخلوية لاتتركز، ولكن تتكون بللورات ثلجية كبيرة داخل الخلايا مما يعمل على إتلاف مكوناتها الداخلية.

وتتم عملية التجميد بتنمية الفطر فى البيئة المناسبة، ثم إضافة محلول ١٠٪ جلسرول معقم وتجمع الجراثيم به، أما فى حالة الفطريات غير المتجرمة يؤخذ مكعب من البيئة الغذائية النامى عليها هيفات الفطر باستخدام ثاقب الفلين، ويضاف إليه ٥,٠ ملل من الجلسرول.

وفى حالة الخميرة، يتم عمل معلق خلوى فى البيئة يحتوى على ٦١٠-٧١٠ خلية/ملل ثم يضاف اليه حجم مساوي من محلول ١٠٪ جلسرول؛ بحيث يكون تركيز الجلسرول النهائى ٥٪.

وينقل مخلوط الجراثيم مع مادة الحماية (الجلسرول) إلى أوعية الحفظ - غالبا باستخدام أنابيب شعرية من البولى بروبيلين - وبعد إغلاقها تجمع فى أوعية الومنيوم صغيرة، ثم توضع فى قمة الوعاء الذى يحتوى على النتروجين السائل، والذى يكون به بخار النتروجين؛ كى يبدأ التبريد بمعدل درجة مئوية/دقيقة حتى الوصول إلى

حرارة ٣٥-٣٠ م؛ حيث يستغرق ذلك نحو ٤٠-٤٥ دقيقة، بعد ذلك تغمر في أوعية الحفظ في النتروجين السائل للوصول إلى -١٩٦ م.

وتتم استعادة هذه المزارع الفطرية لحيويتها عن طريق إزالتها من الأوعية المفرغة، وترك في الجو العادي حتى تفقد برودتها الشديدة، ثم تنمى على بيئة غذائية مناسبة بالطريقة المعتادة.

ويوفر النتروجين السائل درجة حرارة بالغة الانخفاض تصل إلى ١٩٦ درجة مئوية تحت الصفر، وتعتبر هذه الدرجة كافية لوقف حيوية المزرعة الفطرية؛ حيث إن العمليات الحيوية تقف تماماً إذا ما انخفضت درجة الحرارة إلى ١٣٠ درجة مئوية تحت الصفر؛ وبالتالي تستمر هذه الفطريات المحفوظة في النتروجين السائل في حالة توقف مؤقت عن الحياة طوال فترة وجودها تحت هذه الظروف.

ويعتبر تخزين الكائنات الحية الدقيقة -عن طريق استعمال النتروجين السائل- طريقة باهظة التكاليف، لكنها أفضل الطرق، إلا أنها مستعملة في بعض الحالات الخاصة للمزارع الفطرية ذات الأهمية الصناعية.

هـ- طرق أخرى لحفظ المزارع الفطرية:

لا تُتاح لمعظم المعامل المتخصصة في حفظ مزارع السلالات الفطرية ذات الأهمية الصناعية حفظ مزارعها تحت ظروف التجفيد، أو التجميد البالغ البرودة باستعمال النتروجين السائل. كما أن كثيراً من العاملين في هذا المجال ينقصهم الوقت الكافي لنقل النموات الفطرية بصورة دورية على بيئات غذائية متخصصة، لكي تستمر عزلاتهم الفطرية محتفظة بحيويتها لفترة كافية، كما أنهم يجدون في طريقة حفظ النموات الفطرية تحت طبقة من الزيت طريقة غير مرغوبة. وفي مثل هذه الحالات يمكن اتباع طرق أخرى لحفظ المزارع الفطرية؛ مثال ذلك مزارع التربة، ومزارع السليكاجيل، والحفظ في الماء.

* مزارع التربة soil cultures:

تستعمل في هذه الحالة تربة خاصة مكونة من طين ورمل ومادة عضوية (تربة

خصبة loom)، يتم تعقيمها في الأوتوكلاف، ثم يضاف معلق من جراثيم الفطر المراد حفظه عليها، ويترك لينمو حوالى عشرة أيام.

ويتم تخزين المزارع الفطرية في ثلاجة على حرارة ٢٥-٢٨°م. وتعتبر هذه الطريقة مناسبة لإنماء الأنواع التابعة للجنس *Fusarium* وللجنس *Septoria*، والتي سرعان ماتفقد حيويتها وتندهور إذا ماتركت نامية على بيئة الآجار، ولكنها - عن طريق هذه الوسيلة في الحفظ - تبقى لفترات طويلة محتفظة بحيويتها.

* مزارع السيليكاجيل silica gel cultures:

يتم تجهيز معلق من جراثيم الفطر في لبن فرز skimmed milk، ثم يضاف ذلك المعلق إلى سيليكاجيل لا مائية anhydrous silica gel في زجاجات ذات أغشية محكمة الأغلاق (تغلق حلزونياً).

ويترك المخلوط السابق ليجف لمدة حوالى ١٤ يوماً في الزجاجات المفتوحة، وبعد تمام جفافها تغلق الزجاجات بإحكام، وتخزن في ثلاجة، أو في الجو العادى. ويلاحظ أنه عند إضافة الماء إلى مادة سيليكاجيل تتولد حرارة عالية؛ لذا يجب أن تكون المواد والمحاليل المستخدمة مبردة قبل البدء في مراحل تصنيع مزارع السيليكاجيل، وتتميز مثل هذه المزارع بقدرتها على الاحتفاظ بحيويتها لسنوات طويلة.

وتعتبر هذه الطريقة تعديلاً للطريقة التى اتبعها Roberts، ثم (Ogata 1962)؛ وذلك بغرض حفظ المادة الوراثية لفطر *Neurospora* المستخدم في تجارب الهندسة الوراثية للفطريات؛ وهى تصلح فقط للفطريات المتجرمة، ولا تصلح لحفظ المزارع الميسليومية mycelial cultures أو الفطريات التابعة للماستجوميسيتات Mastigomy-cationa.

* الحفظ فى الماء water storage:

أظهرت تجارب حفظ المزارع الفطرية فى الماء نجاحاً مذهلاً. ويتم ذلك عن طريق إنماء الفطر على بيئة آجار فقيرة فى محتواها من العناصر الغذائية فى أطباق بترى، وعندما تغطى النموات الفطرية سطح البيئة، تُقَطَّع إلى قطع صغيرة باستعمال مشرط معقم.

وتنقل قطع بيئة الآجار المغطاة بنموات الفطر -تحت شروط التعقيم- إلى زجاجات ذات فوهة تغلق بسدادات حلزونية تحتوى على كمية صغيرة من الماء المقطر المعقم، وبعد ذلك تغلق فوهة الزجاجات، وتحفظ الزجاجات فى درجة حرارة منخفضة (ثلاجات حفظ المزارع الفطرية).

وباتباع هذا الأسلوب يمكن حفظ المزارع الفطرية التابعة للجنسين *Pythium* و *Phytophthora* على حرارة ٢١٥°م. وتتبع هذه الطريقة فى حفظ الفطريات فى معهد الكومنولث للفطريات (CMI) Commonwealth Mycological Institute؛ حيث تبقى المزارع فى حالة جيدة لمدة تزيد على عامين. ويلاحظ أن الفطرين السابقين لا يمكنهما الاحتفاظ بحيويتيهما عند تخزينهما بطريقة التجفيد أو فى السيليكاجيل، بينما تعتبر طريقة التخزين فى الماء طريقة مناسبة لهما وللفطريات الأخرى الشبيهة بهما.

وهناك طرق أخرى لحفظ المزارع الفطرية؛ منها حفظ جراثيم الفطريات فى الرمل، وكذلك تجفيف المزارع بعد نموها على ورق الترشيح، وتغطية المزارع الفطرية بشمع البارافين paraffin wax.

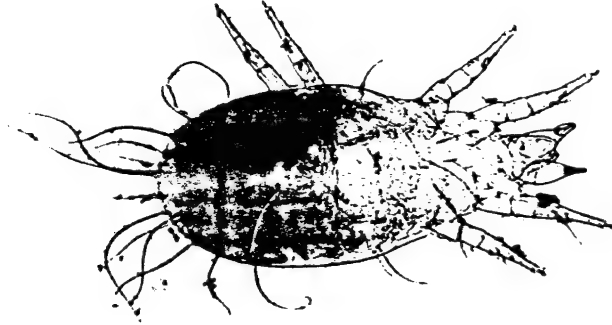
ويلاحظ أنه فى بعض الحالات تكون المزارع الفطرية المحتفظ بها دائماً الاستخدام، أو قد يكون من المرغوب حفظها ولكن لفترات قصيرة، وفى مثل هذه الحالات -وغيرها- ينصح بأن تتم تنمية العزلات الفطرية على بيئة الآجار المائل فى أنابيب اختبار زجاجية سواء كبيرة أم صغيرة.

بينما فى حالة رغبة المعمل فى حفظ عدد كبير من السلالات الفطرية لفترات طويلة، فإنه يفضل اتباع طريقة التجفيد أو التجميد فى النيتروجين السائل. كما أن هذه الطريقة تعتبر مثالية عندما يتطلب الأمر إرسال سلالات فطرية إلى معامل أخرى بعيدة، سواء داخل البلاد أم خارجها.

٤- الأكاروسات ملتهمة الفطريات:

يعتبر هذا الحيوان الصغير (أربعة أزواج من الأرجل) أكثر الآفات التى تلوث معامل الفطريات فى العالم؛ فقد تحتفظ المزارع الفطرية بحالة نقية لسنوات طويلة دون مشاكل ماء، وفجأة تظهر مئات من هذه المزارع ملوثة.

لذا يجب على القائمين على العمل فى معامل الفطريات الاهتمام الدائم والمستمر ليس فقط بالمزارع الفطرية، ولكن أيضاً بما يحيط بها من مصادر تلوث، قد يحمل بعضها مثل هذه الأكاروسات المدمرة، التى قد تؤدي إلى فقد عديد من السلالات الفطرية ذات الأهمية البالغة.



شكل (١٥٣): أكاروس الفطريات fungal mite.

وتختلف أكاروسات الفطريات فيما بينها من ناحية الشكل والحجم، ولكن عندما نشاهدها وهى تلوث المزارع الفطرية، فإن العين لاتخطئها أبداً. ويصل طول الأكاروس البالغ إلى نحو ٢٠ ميكرونًا؛ لذا فلا يمكن رؤيته بالعين المجردة.

وتتغذى هذه الأكاروسات على النموات الفطرية، وتجد فيها غذاءً شهياً. وهى تتحرك بحرية بين المزارع الفطرية، وتتخلل السدادات القطنية نظراً لضآلة حجمها. وعندما يشاهد أحد هذه الحيوانات الصغيرة المدمرة فى مزرعة فطرية ما، فإنه يجب فحص جميع المزارع الموجودة فى المعمل فحصاً جيداً باستعمال المجهر.

كما تجب ملاحظة وجود بيض الأكاروسات خلال الفحص المجهرى؛ حيث إنه من الصعب قتلها بالمقارنة بالحيوانات الكبيرة والصغيرة. ويتميز بيض الأكاروس بلونه الباهت، ولكن يبدو لونه بنيًا داكنًا عند فحص المزارع الفطرية بواسطة المجهر الضوئى العادى. وبالمقارنة بحجم جراثيم الفطريات، فإن بيض الأكاروس كبير الحجم، ويسهل تمييزه.

وتقوم الأكاروسات الضارة بالمعامل الفطرية بالتهام النموات الفطرية، مؤديةً إلى تلويثها، نظراً لتحركها من مزرعة إلى أخرى، حاملةً على جسمها جراثيم السلالات المختلفة من هذه الفطريات أينما ذهبت، سواء داخل الأطباق البترى، أم داخل أنابيب المزارع الفطرية النامية على بيئة الآجار المائل؛ حيث تزحف هذه الحيوانات الضئيلة الحجم من خلال السدادات القطنية، وأيضاً من خلال السدادات المعاملة بالبارافين paraffined plugs.

ولقد وجد أنه عندما تكون السدادات المستعملة فى إغلاق المزارع الفطرية محكمة، فإن الأكاروسات تفقد كثيراً من الجراثيم العالقة بجسمها خلال زحفها عبر السدادة إلى داخل المزرعة الفطرية، وفى هذه الحالة لا يحدث تلوث -عادةً- بفطريات أخرى، بينما يرجع الضرر الرئيسى إلى التهام الأكاروس للنموات الفطرية. وقد يعمل نقل جراثيم الفطريات -التي تبقى محتفظةً بحيويتها داخل القناة الهضمية للأكاروس- على تلوث المزارع الأخرى.

وليس من السهل مكافحة أكاروسات الفطريات؛ حيث إنها تقطن جميع أنواع المواد الخام، وأيضاً على الأجهزة والمستلزمات المعملية، وقد تكون ملوثةً للمزارع الفطرية القادمة من المعامل الأخرى؛ لذلك فمن الضروري اتباع الوسائل الصحية؛ وذلك لمنع دخولها إلى معامل الفطريات وحجرات حفظ المزارع الفطرية.

ويلزم الحذر الدائم من مخاطر الأكاروسات، وخاصةً خلال الطقس الحار الرطب، فإذا ما ظهرت بوادر وجود بعض أفراد من هذه الأكاروسات، فإنه يجب إعلان حالة الطوارئ في المعمل كله. وعادةً ما يتبع تطهير المزارع الفطرية؛ وذلك بتعريضها لبخار بعض المواد السامة للأكاروسات، ولكن يجب أن تكون غير ضارةً للنباتات الفطرية.

ولقد اتبع استخدام مادة *p-dichlorobenzene* وكذلك الكيروسين الخام -فيما مضى- كمادة فعالة ضد الأكاروسات، إلا أن المادة الأولى تعتبر مادةً مسرطنة، بينما لا يمتد مفعول المادة الثانية (الكيروسين) لفترة طويلة.

ويتبع حالياً استخدام مواد مختلفة قاتلة للأكاروسات *acaricides*؛ وذلك بمعهد الكومنولث للفطريات (CMI)؛ مثال ذلك مادة كيلثان *kelthane*؛ وهي تتكون من *4,4-dichloro-trichloromethyl-benzhydryol*، ومادة تديون *Tedion* ومادة كريبو *Creppo*. ومن المواد الحديثة استعمال مادة *actellic*؛ وهو مبيد للأكاروس منتج من شركة ICI للاستخدامات الزراعية، وهو غير ضارٍ بمعظم الفطريات. وعلى أية حالٍ يجب اتباع الاحتياطات الصحية اللازمة عند استخدام مثل هذه المطهرات الكيميائية في المعمل، كما ينصح بارتداء قفازات من البلاستيك خلال استعمال مثل هذه المواد السامة.

وهناك وسائل أخرى يلجأ إليها العاملون في معامل الفطريات لحماية المزارع الفطرية من هجوم أكاروسات الفطريات؛ مثال ذلك إضافة مواد كيميائية سامة إلى السدادات القطنية المستعملة. ومن هذه المواد محلول كلوريد الزئبق الملون *coloured mercuric chloride solution*، إلا أن هذه المادة سامة.

ويستعمل فى معهد الكومنولث للفطريات (CMI) ورق البفرة (ورق رقيق يستخدم فى صناعة السجائر) فى إغلاق أنابيب المزارع الفطرية؛ حيث توضع فوق السدادات القطنية الشائع استعمالها، أو تدفع أسفلها، ويتم تثبيتها على حواف فوهة الأنابيب أو الزجاجات بمادة لاصقة تحتوى على كبريتات النحاس copper sulphate gelatine glue، والتي تتركب من ٢٠٪ كبريتات نحاس، و ٢٠٪ جيلاتين، و ٦٠٪ ماء.

وإذا استعملت الزجاجات السابقة دون وجود سدادات تحمى المزرعة الفطرية من التلوث، فإنه يجب تعقيم ورق البفرة المستخدم فى سد فوهات هذه الزجاجات. ويتم تعقيم ورق البفرة فى وعاء زجاجي، بأن تضاف إليه نقطة أو نقطتان من مادة أكسيد البروبيلين propylene oxide، ويغلق الوعاء، ويترك لمدة ليلة.

ويتميز ورق البفرة بأنه يسمح للهواء بالمرور بحرية من خلاله، بينما لايسمح للأكاروسات بالمرور، نظراً لأن ثقب هذا الورق أقل بكثير من حجم هذه الحيوانات.

وهناك طرق أخرى تستعمل فى حماية المزارع الفطرية من أخطار هذه الأكاروسات، منها وضع قواعد الثلاثيات فى أوعية تحتوى على قليل من الماء؛ حيث يمنع ذلك إنتقال الأكاروسات لمهاجمة المزارع الفطرية الموجودة بها، وكذلك يمكن استعمال حواجز من الفازلين تلتصق عليها هذه الحيوانات الصغيرة عند اتجاهها إلى الأماكن المخزن بها المزارع الفطرية.

كما يجب إحكام إغلاق الأطباق البترى باستخدام شريط لاصق، وهذا يمنع دخول الأكاروسات داخله، وكذلك يقلل من جفاف البيئة الغذائية التى ينمو عليها الفطر. وعلى الرغم من اتباع هذه الطريقة فى إغلاق الأطباق البترى، إلا أن الأكاروسات قد تجد لنفسها منفذاً تعبر منه إلى داخل مثل هذه الأطباق وتلوثها.

وبالإضافة إلى ماسبق، فتوجد طريقة ممتازة لمنع تلوث المزارع الفطرية بالأكاروسات، وذلك بحفظها داخل ثلاجة على درجة حرارة منخفضة لاتزيد عن ٨°م. ولاتفضل

الأكاروسات مثل هذه الأماكن الباردة. وإذا ما وجدت الأكاروسات في مثل هذه الظروف من البرودة، فإنها تتحرك ببطء شديد، ولا تنتشر، مما يحد من خطورتها في تلويث المزارع الفطرية المحفوظة. ولكن سرعان ما تستعيد هذه الأكاروسات نشاطها عندما يتم إخراج المزارع الفطرية إلى درجة حرارة الغرفة. ولاتهاجم الأكاروسات المزارع الفطرية المحفوظة تحت طبقة من الزيت.

٥- تسجيل بيانات المزارع الفطرية:

من الأهمية تسجيل جميع البيانات الخاصة بسلالة الفطر المراد حفظه في معمل حفظ الفطريات، وتشمل البيانات الاسم العلمي للفطر، ومصدره، والمكان الذي تم عزله منه، وتاريخ العزل واسم القائم على العمل، وغير ذلك من بيانات أخرى هامة.

وبعد هذا التسجيل الأولى للعزلة الفطرية، يجب أن يهتم العاملون في معمل حفظ الفطريات بتسجيل وصف شامل للعزلة الفطرية عند وصولها إليهم، وكذلك أية تغيرات تطرأ عليها خلال حفظها في المعمل.

وتعتبر متابعة العزلات الفطرية في المعمل بصفة دورية من الأهمية بمكان، خاصة عندما يزداد عدد هذه العزلات الفطرية في المعمل، وكذلك عند تسليم هذه العزلات إلى عاملين جدد. ويراعى تسجيل ظروف إنماء العزلات الفطرية وغيرها من البيانات على بطاقات خاصة بذلك، ثم تفرغها في برنامج خاص في الحاسب الآلى لسهولة المتابعة.

٦- بنوك المزارع الفطرية culture collections:

يقصد بذلك جمع عدد كبير من المزارع النقية لسلالات فطرية ذات أهمية خاصة في أحد المعامل الملحقة بمراكز البحوث الفطرية، والتي يتم تجهيزها بحيث يمكنها إمداد المعاهد العلمية الأخرى والمصانع وكذلك الأفراد العاملين في مجال الفطريات باحتياجاتهم من هذه المزارع الفطرية بصورة دورية.

ويعتبر معهد بحوث الفطريات Centraalbureau voor schimmelcultures (CBS) بمدينة بارن بهولاندا هو أكبر هذه المعاهد المتخصصة في مجال حفظ المزارع الفطرية وتقديمها لمن يطلبها من العاملين في هذا المجال.

كما يوجد في إنجلترا معهد الكومنولث للفطريات Commonwealth Mycological Institute (CMI) بمدينة كيو kew؛ حيث يصدر قائمةً بالسلالات الفطرية الموجودة لديه من وقتٍ إلى آخر. وهناك معاهد أخرى تهتم بحفظ بعض السلالات الفطرية التي تهتم بدراساتها، أو تكون ذات أهمية خاصة مثل الفطريات الصناعية المستخدمة في بلد ما، أو الفطريات ذات الثمار الكبيرة المأكولة مثل فطريات عيش الغراب.

٧ : تركيب بعض البيئات الغذائية

المستعملة في إنماء الفطريات :

١ - بيئة زابك Czapeck- medium :

أ - بيئة زابك المركزة Concentrate Czapeck- medium :

٣٠ جرام	Na NO ₃	نترات صوديوم
٥ جرامات	Kcl	كلوريد بوتاسيوم
٥ جرامات	Mg SO ₄ . 7H ₂ O	كبريتات مغنسيوم
٠,١ جراماً	Fe SO ₄ . 7H ₂ O	كبريتات حديدوز
١٠٠٠ مليلتر		ماء

ب - آجار زابك إبروديون داي كلوران لتنمية جنس *Fusarium*

(Czapek iprodione dichloran agar) :

٣٠ جرام	سكروز
٥ جرامات	مستخلص خميرة
١٠٠ ملليجرام	كلورامفينيكول (٠,٢ ٪ في كحول ايثانول = ١ ملل)
١٠ مليلتر	بيئة زابك المركزة
٥ ملليجرام	كبريتات نحاس
١٠ ملليجرام	كبريتات زنك
١٥ جراماً	آجار
لتر واحد	ماء مقطر
ملل واحد	معلق إبروديون

تخلط المكونات وتعقم على ١٢١°م / ١٥ دقيقة ويضاف ابروديون (محلول ٣ جم مادة Roval soup المنتج من شركة Rhone- Poulenc Agro- Chemie, Lyon, France مذابة في ٥٠ ملل ماء معقم، ويتم رجها قبل الاضافة للبيئه.

ح - أجار زابك ومستخلص الخميرة Czapok yeast extract agar لتنمية الفطر *Penicillium*

جرام واحد	فوسفات ثنائي البوتاسيوم
١٠ ملل	بيئة ذابك المركزة
٥ ملليجرام	كبريتات نحاس
١٠ ملليجرام	كبريتات زنك
٥ جرامات	مستخلص خميرة
٣٠ جراماً	سكروز
١٥ جراماً	أجار
لتر واحد	ماء مقطر

تعقم على ١٢١°م / ١٥ دقيقة ورقم الحموضة النهائي ٦,٧ .

د - بيئة أجار ذابك ومستخلص الخميره والسكروز بنسبة ٢٠ % Czapek yeast extract agar with 20% sucrose agar لتنمية الفطر *Eurotium* .

جرام واحد	فوسفات ثنائي البوتاسيوم
١٠ ملليلترات	بيئة زابك المركزة
٥ جرامات	مستخلص خميرة
٢٠٠ جرام	سكروز
١٥ جراماً	اجار
لتر واحد	ماء مقطر

تعقم على ١٢١°م / ١٥ دقيقة ورقم الحموضه النهائي ٥,٢ .

٢ - بيئات تنمية عامة للفطريات :

أ- آجار البطاطس والدكستروز *Potato dextrose agar*

بطاطس	٢٥٠ جراماً
جلوكوز	٢٠ جراماً
آجار	١٥ جراماً
ماء مقطر	لتر واحد

تغسل البطاطس وتقطع إلى شرائح أو مكعبات صغيرة وتوضع في ٥٠٠ مليلتر ماء، وتغلى لمدة ٣٠ - ٤٥ دقيقة، وفي نفس الوقت يذاب الآجار في ٥٠٠ مليلتر ماء. يصفى البطاطس خلال عدة طبقات من الشاش، وينقل إلى الوعاء المحتوي على محلول الآجار ثم يضاف الجلوكوز ويكمل الحجم النهائي إلى لتر بالماء المقطر، ويعقم على ١٢١°م / ١٥ دقيقة.

ب- بيئة آجار الداى كلوران والكلورو امفينيكول ومستخلص المولت *Dichloran chloramphenicol malt extract agar* لتنمية الفطر *Alternaria* وغيره من الفطريات الهيفية :-

مستخلص مولت	١٠ جرامات
داى كلوران	٢ ملليجرام
كلورامفينيكول	٠,١ جراماً
آجار	١٥ جراماً
ماء مقطر	لتر واحد

تعقم على ١٢١°م / ١٥ دقيقة ورقم الحموضة النهائي ٥,٥ - ٦,٠٠.

ج - بيئة آجار داي كلوران وروزبنجال وكلوروامفينيكول

Dichloran rosebengal chloramphenicol agar

جلوكوز	١٠ جرامات
بيتون	٥ جرامات
فوسفات احادي البوتاسيوم	واحد جرام
كبريتات مغنسيوم	٠,٥ جراماً
آجار	١٥ جراماً
روزبنجال	٢٥ ملليجرام
داي كلوران	٢ ملليجرام
كلورامفينيكول	١٠٠ ملليجرام
ماء مقطر	لتر واحد

تعقم على ١٢١° / ١٥ دقيقة ورقم الحموضة النهائي ٥,٥ - ٥,٨. يجب حفظ البيئة بعيداً عن الضوء.

٣- بيئات تنمية عامة للخمائر :

أ- بيئة أجار التريتون والجلوكوز ومستخلص الخميرة **Tryptone glucose yeast extract agar**

جلوكوز	١٠٠ جرام
تريتون	٥ جرامات
مستخلص خميره	٥ جرامات
كلورامفينيكول	٠,١ جراماً
اجار	١٥ جراماً
ماء مقطر	لتر واحد

تعقم على ١٢١° / ١٠ دقائق، ورقم الحموضة النهائي ٥,٥ - ٦,٠٠.

ب - آجار أوكسى تتراسيكلين والجلوكوز ومستخلص الخميرة

: Oxytetracycline glucose yeast extract agar

جلوكوز	٢٠ جراماً
مستخلص خميره	٥ جرامات
آجار	١٥ جراماً
أوكسى تتراسيكلين	١٠٠ ملليجرام

تعقم على ١٢١°م / ١٥ دقيقة، ويضاف أوكسى تتراسيكلين بعد التعقيم. رقم الحموضة النهائي ٦,٨ - ٧,٢.

ج - بيئة آجار مستخلص المولت : Malt extract agar

مستخلص مولت	٢٠ جراماً
بيتون	جرام واحد
جلوكوز	٢٠ جراماً
آجار	٢٠ جراماً
ماء مقطر	لتر واحد

تعقم على ١٢١°م / ١٥ دقيقة. رقم الحموضة النهائي ٥,٦.

بيئات لتنمية الفطريات المحبة للضغط الأسموزية العالية : Xerophilic fungi :

أ- بيئة آجار مستخلص المولت ومستخلص الخميرة المحتوى على ٥٪ أو ١٠٪ ملح طعام (كلوريد الصوديوم) و ١٢٪ جلوكوز.

: Malt extract yeast extract α 5% (or 10%) salt and 12% glucose agar

٢٠ جراماً	مستخلص مولت
٥ جرامات	مستخلص خميرة
٥٠ جراماً (أو ١٠٠ جرام)	كلوريد صوديوم
١٢٠ جراماً	جلوكوز
٢٠ جراماً	آجار
لتر واحد	ماء مقطر

تعقم على ١٢١°م / ١٠ دقائق بالغلي لمدة ٣٠ دقيقة.

ب - بيئة آجار مستخلص المولت ومستخلص الخميرة المحتوى على ٧٠٪ جلوكوزاً وفركتوزاً. : Malt extract yeast extract, 70% glucose, fructose agar

٦ جرامات	مستخلص مولت
١,٥ جراماً	مستخلص خميرة
٦ جرامات	آجار
٣٠٠ مليلتر	ماء مقطر
٣٠٠ جرام	فركتوز
٣٠٠ جرام	جلوكوز

يتم الغليان بإذابة المكونات لمدة ٣٠ دقيقة، ولا تحتاج تعقيم بعد ذلك، وتحتا حوالى ٢٤ ساعة بعد الصب لى يصبح قوامها نسيكاً.

ملحق (١) : المراجع

- Aiba, S.; Humphrey, A.E. and Millis, N.F. (1973). Biochemical Engineering. 2ed Ed. Univ. Tokyo Press, Japan.
- Anke, T. and Steglish, W. (1988). New Biological Active compounds from basidiomycetes. Forum Mikrobiol. 11:21 - 28.
- Bains, W. (1993). Biotechnology from A to Z. Oxford Univ. Press England.
- Bartnicki - Garcia, S.C. (1968). Cell wall chemistry, morphogenesis and taxonomy of fungi. Ann. Rev. Microbiol. 22:87 - 108.
- Borel, J.F. (1983). Cyclosporine: historical perspectives. In Kahan, B.D. (ed): Cyclosporine: Biological activity and clinical applications. Transplantation Proceedings 15;3 - 13.
- Boysen, M.; Skouboe, P.; Frisvad, J. and Rossen, L. (1996). Reclassification of the *Penicillium roqueforti* group into three species on the basis of molecular genetic and biochemical profiles. Microbiol. 142: 541 - 549.
- Carlile, M.J. and Watkinson, S.C. (1994). The fungi. Academic Press, London, U.K.
- Considine, P.J., Buckley, R. J., Griffin, T.O., Touhy, M.G. and Coughlan, M.P. (1989). A simple and inexpensive method of solid state

cultivation. *Biotechnol. Tech.* 3: 85- 90.

- Crittenden P.D. and Porter, N. (1991). Lichen - forming fungi; Potential sources of novel metabolites. *Trends Biotechnol.* 9, 409 - 414.
- Crueger, W. and Crueger, A. (1990). *Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology*. 2ed Ed. Sinauer Assoc. Inc., Sunderland, MA, U.S.A.
- Deken, de, R.H. (1966). The Crabtree effect: A regulatory system in yeast. *J. Gen. Microbiol.* 44: 149 - 156.
- Dill, I. and Kraepelin, G, (1988). Degradation of lignin / cellulose by white rot fungi. influence of specific ecological factors. *Forum Mikrobiologie*, 11: 484 - 489.
- Esser, K and Mohr, G. (1990). Stammverbesserung von Hyphenpilzen durch die Gentechnik: Fakten und Perspektiven. *Bioengineering* 6 (5): 44 - 55.
- Fakoussa, R.M. (1992). Coal biotechnology. *Bioengineering*, 8 (4): 21 - 28.
- Gray, W.D. (1973). *The use of fungi as food and in food processing*. The chemical Rubber Co. Ohio, USA.
- Haider, K. (1988). The microbial degradation of lignin and its role in the carbon cycle. *Forum Mikrobiol.* 11: 477 - 483.
- Harlander, S.K. and Labuza T.P. (Eds) (1986). *Biotechnology in Food Processing*. Noyes Publications, New Jersey, U.S.A
- Hudson, H.J. (1986). *Fungal biology*. Edward Arnold (Pub). Ltd. London, Uk.
- Ikeno, Y.; Masuda, M., Tanno, K., Oomori, I. and Takahashi, N. (1975).

- Citric acid production from various raw materials by yeasts. J. Ferment. Tech. 53: 752 - 756.
- Jaeger, A. and Wandrey, Chr. (1990). Production of ligninperoxidases in a fixed bed loop reactor. Forum Mikrobiol. 13: 410 - 417.
- King, R.D. and Cheetham, P.S.J. (Eds) (1986). Food Biotechnology -1. El - Sevier Appl. Sci. Publ. London, U. K.
- Kirsop, B.E. and Doyle, A. (Eds) (1991). Maintenance of microorganisms and cultured cells: A manual of laboratory methods. 2ed. Ed. Academic Press, London. U.K.
- Laatsch, H. (1990). Toxins of edible fungi. Forum Mikrobiol. 13: 460 - 465.
- Larone, D.H. (1993). Medically important fungi - a guide to identification. American Society for Microbiology. Washington, USA.
- Lommi, H.; Groenqvist, A. and Pajunen, E. (1990). Immobilized yeast reactor speeds beer production. Food Technol. 44 (5): 128 - 133.
- McNeil, B. and Harvey, L. M. (Ed). (1990). Fermentation: A practical Approach. Oxford Univ. Press, U.K.
- Moat, A.G. and Foster, J. W. (1995). Microbial Physiology. 3rd. Ed. Wiley - Liss, New York.
- Molimard, P. and Spinnler, H.E. (1996). Compounds involved in the flavour of surface mold ripend cheeses: origins and properties. J. Dairy Sci. 79: 169 - 184.
- Moss, M.O. (1987). Fungal biotechnology round up. The Mycologist, 21 (2): 55 - 58.
- Mounter, J., (1977). Dying with fungi. Mycologist, 11 (4): 175.

- Onions, A.H.S; Allsopp, D. and Eggins, H.O.W. (1981). Smith's Introduction to industrial mycology. Edward Arnold Publi., U.K.
- Panitz, C., Frost, P. and Kunz, B. (1991). Pigment formation and biomass production of *Monoascus purpureus* in synthetic media. Bioengineering, 7 (5): 70 - 75.
- Peberdy, J.F. (1987). Developments in protoplast fusion in fungi. Microbiol. Sci. 4: 108 - 114.
- Pitt, J.I. and Hocking, A.D. (1997). Fungi and food spoilage. 2ed Ed. Blackie Academic and Professional, London, U.K.
- Rehm, H.J.; Reed, G.; Puehler, A. and Stadler, P. (1993). Biotechnology. 2ed Ed. Vol. I: Biological fundamentals. VCH - Verlag, Weinheim, Germany.
- Riemann, H. and Bryan, F. L. (Eds.) (1979). Food borne infections and intoxications. 2 ed Ed. Academic Press, New York.
- Rose, A.H. (Ed) (1978). Alcoholic beverages. Economic Microbiol. Vol. 1 Academic Press, London.
- Rose, A.H. (ED) (1978). Primary products of metabolism. Economic Microbiology Vol. 2. Academic Press. London.
- Rose, A.H. (Ed). (1980). Microbial Enzymes and bioconversion. Economic Microbiology Vol. 5. Academic Press., London.
- Rose, A.H. (Ed) (1981). Microbial Biodeterioration. Economic Microbiology Vol. 6. Academic Press, London.
- Rose, A.H. (Ed) (1982). Fermented Food. Economic Microbiology. Vol. 7. Academic Press, London
- Smith I.; Smith, E and Berry, D.R (1975). The filamentous fungi. Vol. 1:

-
- Industrial Mycology. Edward Arnold Publ. London, U.K.
- Stanley, M.R; Turner, N.J; Willetts, A, J. and Turner, M.K (1995). Introduction to biocatalysis using enzymes and microorganisms. Cambridge Univ. Press, U.K.
- Steinkraus, K.H. (1995). Handbook of indigenous fermented foods. 2 ed Ed. Marcel Dekkar Inc, Now York.
- Usitalo, J.M., Nevalainen, K. M.H. Harkki, A.M. Knowles, J.K. C. and Penttila, M. E (1991). Enzyme production by recombinant *Trichoderma reesei*. J. Biotechnol. 17: 35 - 50.
- Wainwright, M. (1992). An introduction to fungal biotechnology. John Wiley & Sons Ltd. England.
- Ward, P.O. (1989). Fermentation biotechnology. Principales, processes and products. John Wiley & Sons, Chichester, U.K.
- Wood, B.J.B. (Ed). (1985). Microbiology of fermented foods. El - Sevier Appl. Sci. Publ. London, U.K.
- Xu, W.Q and Hang, Y.D (1988). Roller culture technique for citric acid production by *Aspergillus niger*. Process Biochem. August 1988, 117 - 118.

(ملحق ٢): أمثلة لبعض الفطريات ذات الأهمية الصناعية

تهتم بعض المراكز العلمية وبنوك الفطريات في شتى أنحاء العالم بتوفير سلالات فطرية متخصصة في انتاج بعض المنتجات الحيوية ذات الإهمية الصناعية، حيث تأخذ مثل هذه السلالات الفطريات أرقاماً محددة يسبقها اختصار أسم المركز العلمي أو مثل هذه البنوك الفطرية.

وتتباين أسعار مثل هذه العزلات الفطرية تبعاً لنوعها ومصدرها، وفيما يلي أهم هذه المراكز العلمية وبنوك الفطريات التي يمكن الاتصال بها على شبكة الانترنت:

DSMZ: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
Masheroder weg 1b, D - 38124 Brawnschweig, Germany. E -
mail: dsmz @ gbf. de.

ATCC: American Type Culture Collection,
12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852. U.S.A
E - mail: request @ atcc.org

CBS: Centraalbureau voor Schimmelcultures
P.O. Box 273, NL - 3740 AG Baarn, The Netherlands.
E - Mail: info @ cbs. knaw. nl

MUCL: Mycoteque de l'universite' Catholique de Louvain
Place Croix du sud 3, Bte6
B - 1348 Louvain - la - Neuve, Belgium

**أمثلة لبعض الفطريات المستخدمة
في إنتاج بعض المنتجات ذات الأهمية الصناعية**

المنتج	الفطر المستخدم
Ethanol إيثانول	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763, CBS 5900 MUCL 30115 NRRLY - 567
Carotenoides كاروتينويدات	<i>Acremonium diospyui</i> ATCC 9066, CBS 13151 <i>Phycomyces blakesleeanus</i> ATCC 8743b
Cephalosporin C سيفالوسبورين س	<i>Acremonium chrysogenum</i> ATCC 14553, ATCC, 11550, CBS 77969 <i>Emercellopsis microspora</i> ATCC 14645, CBS 38062
Cephalosporin P سيفالوسبورين ب	<i>Acremonium chrysogenum</i> ATCC 14615, CBS 14462
Citic acid حمض الستريك	<i>Aspergillus niger</i> ATCC, 6275, CBS 13152 <i>Brettanomyces lambicus</i> ATCC 10563, CBS 75, DSMZ 70742 <i>Candida tropicalis</i> CBS 6957

<i>Pichia halophila</i> ATCC 24240, CBS 2028, DSMZ 70365	
<i>Penicillium brevicompactum</i> ATCC 4056, CBS 25729	Ergosterol ارجوستيرول
<i>Saccharomyces cerevisia</i> ATCC 4017 ATCC 9018 MUCL 20201, MUCL 20202 MUCL 20463	Ale beer البيرة صنف Ale
<i>Saccharomyces carlsebergensis</i> MUCL 20478, MUCL 28791, MUCL 28799	Lager beer البيرة صنف Lager
<i>Saccharomyces crevisiae</i> MUCL 29248 <i>Aspergillus foetidus</i> ATCC 10254, CBS 12648 <i>Aspergillus oryzae</i> ATCC 11489, CBS 12559	α - amylase ألفا اميليز
<i>Aspergillus awamori</i> ATCC 22342, NRRL 3112 <i>Aspergillus niger</i> ATCC 22343, NRRL 3122	Amyloglucosidase اميلوجلوكوسيديز
<i>Blakeslea trispora</i> ATCC 14271	β - carotene بيتا كاروتين
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 1004 <i>Chaetomium globosum</i> ATCC 6205, CBS, 14851 <i>Myrothecium verrucaria</i> ATCC 9095, CBS 32852 <i>Trichoderma longibrachiatum</i> MUCL 1045	cillulase سليوليز

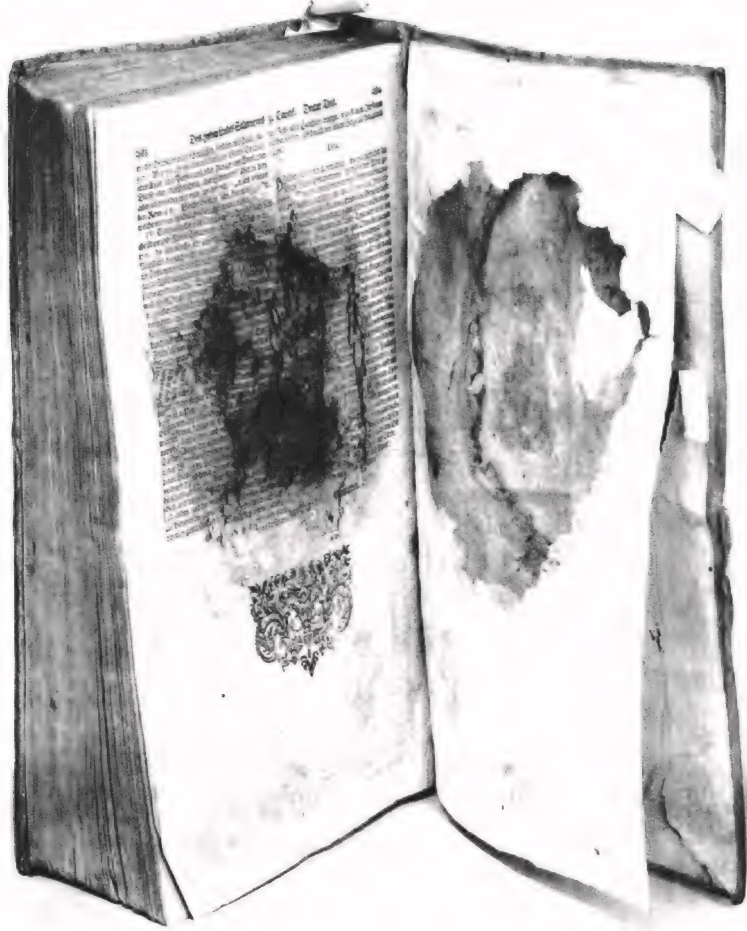
<i>Penicillium camemberti</i> MUCL 18985. ATCC 4845	Camembert cheese الجبن الكامبورت
<i>Penicillium caseicalum</i> ATCC 6986 <i>Penicillium roquefortii</i> ATCC 6987, ATCC 10110	Roquefort cheese الجبن الروكفور
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 36029	Cider نبيذ التفاح
<i>Claviceps purpurea</i> ATCC 14934 <i>Claviceps purpurea</i> ATCC 20106 <i>Claviceps purpurea</i> ATCC 20103 <i>Claviceps purpurea</i> ATCC 20102 <i>Claviceps paspali</i> ATCC 34500 <i>Claviceps paspali</i> ATCC 13892	قلويدات الارجوت Ergocornine Ergocristine Ergocryptine Ergoline Lysergic arid
<i>Eupenicillium javanicum</i> ATCC 9099 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 12341	انتاج الدهون
<i>Aspergillus awamori</i> ATCC 44733 <i>Candida utilis</i> ATCC 42402 <i>Neurospora crassa</i> ATCC 26187	Invertose الإنفرتيز
<i>Rhizopus oryzae</i> ATCC 10260	Fumaric acid حمض الفيوماريك
<i>Calcarisporium antibioticum</i> ATCC 42458 <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16888	Fusidic acid حمض الفيوسيديك Gallic acid حمض الجاليك
<i>Gibberella fujikuroi</i> ATCC 12616, ATCC 14164	حمض الجبريليك والجبريلين Gibberlic acid & Gibberellin
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 9029 <i>Penicillium chrysogenum</i> ATCC 10107	Gluconic acid حمض الجلوكونيك

<i>Aspergillus niger</i> ATCC 9029	Glucose oxidase جلوكوز اكسيديز
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 13356	Glycerol جلسرول
<i>Penicillium griseofulvum</i> ATCC 11885	Griseofulvin جرسيوفولفين
<i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i> ATCC 8585, CBS 2359	β - galactosidase بيتا جالاکتوسيديز
<i>Aspergillus terreus</i> ATCC 10029	Itaconic acid حمض ايتاكونيك
<i>Aspergillus oryzae</i> ATCC 11489, CBS 12559	Kojic acid حمض الكوجيك
<i>Aspergillus foetidus</i> ATCC 10254, CBS 12648 <i>Yarrowia lipolytica</i> ATCC 34088	Lipase ليبيز
<i>Fusarium oxysporum</i> ATCC 10960	Malic acid حمض المالك
<i>Yarrowia lipolytica</i> ATCC 20297	Mannitol مانيتول
<i>Aspergillus oryzae</i> ATCC 26666 <i>Saccharomyces rouxii</i> ATCC 46494	Miso ميزو
<i>Ceratocystis moniliformis</i> ATCC 12861	monoterpenes الترينيات الاحادية
<i>Hebeloma crustuliniforme</i> MUCH 20916 <i>Laccaria laccata</i> MUCL 28894	Mycorrhizae ميكروهيذا
<i>Candida valida</i> ATCC 14927 <i>Rhodotorula plllida</i> ATCC 14926	5 nucleotides النوكليوتيدات
<i>Aspergillus japonicus</i> ATCC 20236 <i>Aspergillus sojae</i> ATCC 20235	الانزيمات المحللة للبكتين Pectolytic enczymes
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> ATCC 2731, CBS 14445	Penicillic acid حمض البنسيليك
<i>Penicillium chrysogenum</i> ATCC 10106, CBS 30648	Penicillin البنسلين

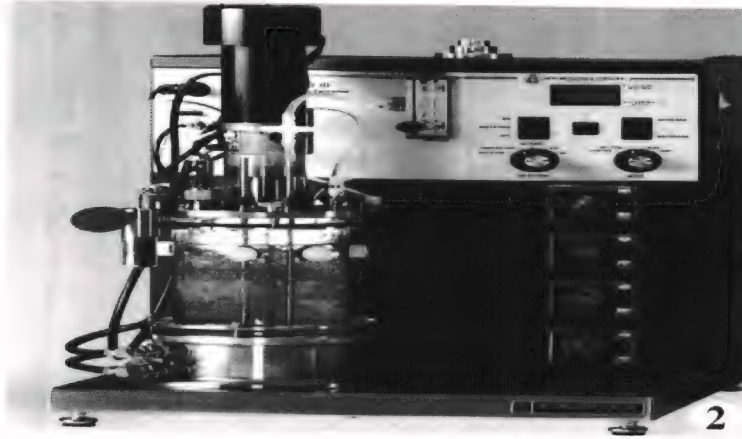
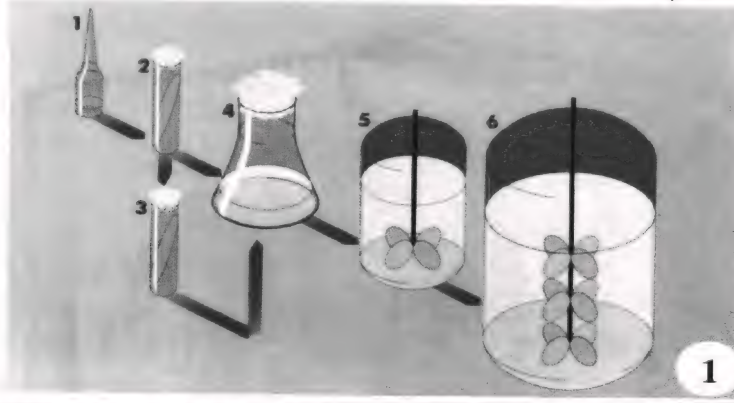
<i>Acremonium chrysogenum</i> ATCC 14553	البنسليين (تابع)
<i>Agaricus bisporus</i> ATCC 24558 <i>Pholiota adiposa</i> CBS 27929, MUCL 7900 <i>Pholiota aurivella</i> CBS 11818, MUCL 7897 <i>Pleurotus colombinus</i> MUCL 28154, MUCL 28785 <i>Pleurotus ostreatus</i> MUCL 28511, MUCL 28786 <i>Pleurotus pulmonarius</i> MUCL 28783, MUCL 28784 <i>Lentinus edodes</i> MUCL 28740, MUCL 28804 <i>Stropharia ferrii</i> MUCL 28743	Mushroom عيش الغراب
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> MUCL 28749	Bread الخبز
<i>Doratomyces purpureofuscus</i> ATCC 16224, CBS 52363 <i>Phanerochaete chrysosporium</i> ATCC 24725, CBS 48173	Lignin hydrolysis تحليل اللجنين
<i>Aureobasidium pullulans</i> ATCC 9348, MUCL 19020	Pullulan انتاج البوليلولان
<i>Ashbya gossypii</i> ATCC 10895, CBS 10951 <i>Candida membranefaciens</i> DSMZ 70109	Riboflavin انتاج الريبوفلافين
<i>Monoascus purpureus</i> ATCC 6405 ATCC 16362, CBS 285, 34	red color الصبغة الحمراء
<i>Aspergillus oryzae</i> ATCC 20386	acid protease بروتينز حامضي

<i>Rhizomucor pusillus</i> ATCC 56683 <i>Talaromyces thermophilus</i> ATCC 20186	بروتيز حامض (تابع)
<i>Acremonium kiliense</i> ATCC 20337 <i>Rhizomucor pusillus</i> ATCC 56683	بروتيز قلوي alkaline protease
<i>Aspergillus oryzae</i> ATCC 20386, ATCC 26666 <i>Saccharomyces rouxii</i> ATCC 14462	انتاج صوص الصويا Soy sauce
<i>Endothia parasitica</i> ATCC 14729	الرنين Renin
<i>Sclerotium gluconicum</i> ATCC 46347	سيكليروجلوكان Scleroglucan
<i>Aspergillus rugulosus</i> ATCC 16820 <i>Aspergillus versicolor</i> ATCC 18643	ستريجماتوسستين Sterigmatocystin
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 11394 <i>Curvularia lunata</i> ATCC 12017 <i>Epicoccum humicola</i> ATCC 12722 <i>Gibberella fujikuroi</i> ATCC 14842 <i>Kloeckera javanica</i> ATCC 20112 <i>Rhizopus stolonifer</i> ATCC 15441 <i>Thamnidium elegans</i> ATCC 18191	تحويلات المركبات الستيرويدية Steroid transformation
<i>Rhizopus oligosporus</i> ATCC 22959	التمبي Tempe
<i>Saccharomyces cerevisia</i> ATCC 4098	النبيد الأبيض white wine
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 4097	الشمبانيا Champagne
<i>Saccharomyces bayanus</i> ATCC 13055	الشيري Sherry
<i>Pichia farinosa</i> ATCC 20210	الزيليترول Xylitol
<i>Gibberella zeae</i> ATCC 20028	الزيرالينون Zearalinone

ملزمة ملونة



لوحة ملونة رقم (١): نموذج لأحد المراجع التاريخية، تعرض لهجوم الفطريات المحللة للسيليلوز والمفرزة للأحماض العضوية، وخاصة تحت ظروف إرتفاع الرطوبة النسبية.

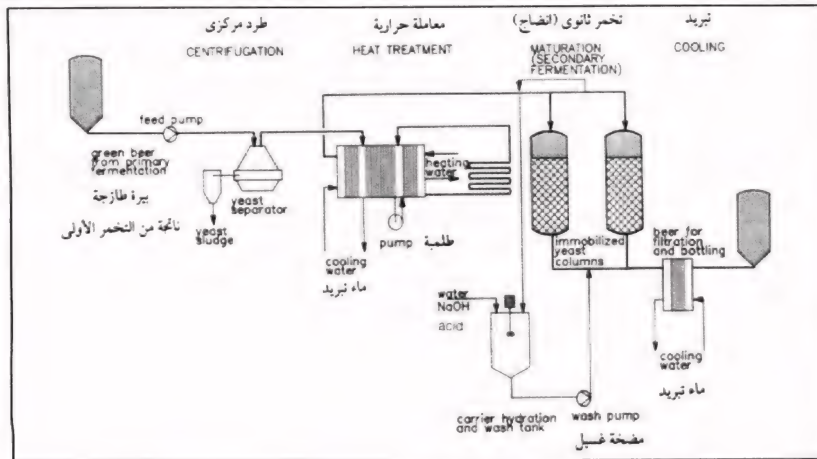


- ٣- مزرعة وسطية (إعادة تنشيط المزرعة الأصلية).
- ٤- مزرعة مهتزة
- ٥- مزرعة في مفاعل حيوي معلمي.
- ٦- مفاعل حيوي صناعي.
- بينما توضح الصورة السفلي مفاعل حيوي معلمي.

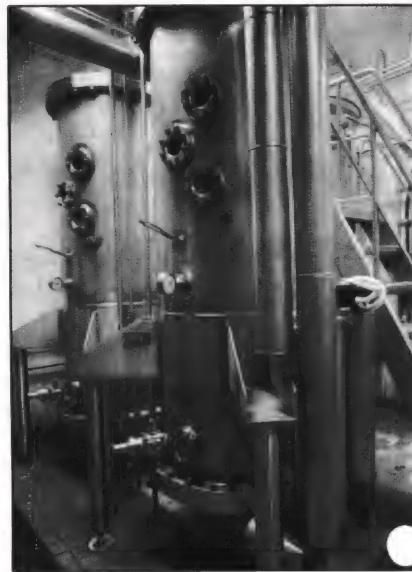
- لوحة ملونة رقم (٢): مراحل تجهيز اللقاح الفطري (البادئ) المستخدم في الصناعة من المزرعة الفطرية إلى مرحلة التخمر.
- ١- مزرعة الفطر المحفوظة بالتجميد (deep- frozen stock)
- ٢- مزرعة الأجار المائل.



لوحة ملونة رقم (٣) : منظر عام لخط تجريبي لتطوير إنتاج النموات الفطرية (الكتلة الحيوية - bio-mass) ، ونواتج التخمر. ويحتوي هذا الخط على ثلاثة أوعية تخمر fermentor ذات أحجام ٧٥ لتر، و ٢٥٠ لتر، و ١٠٠٠ لتر.

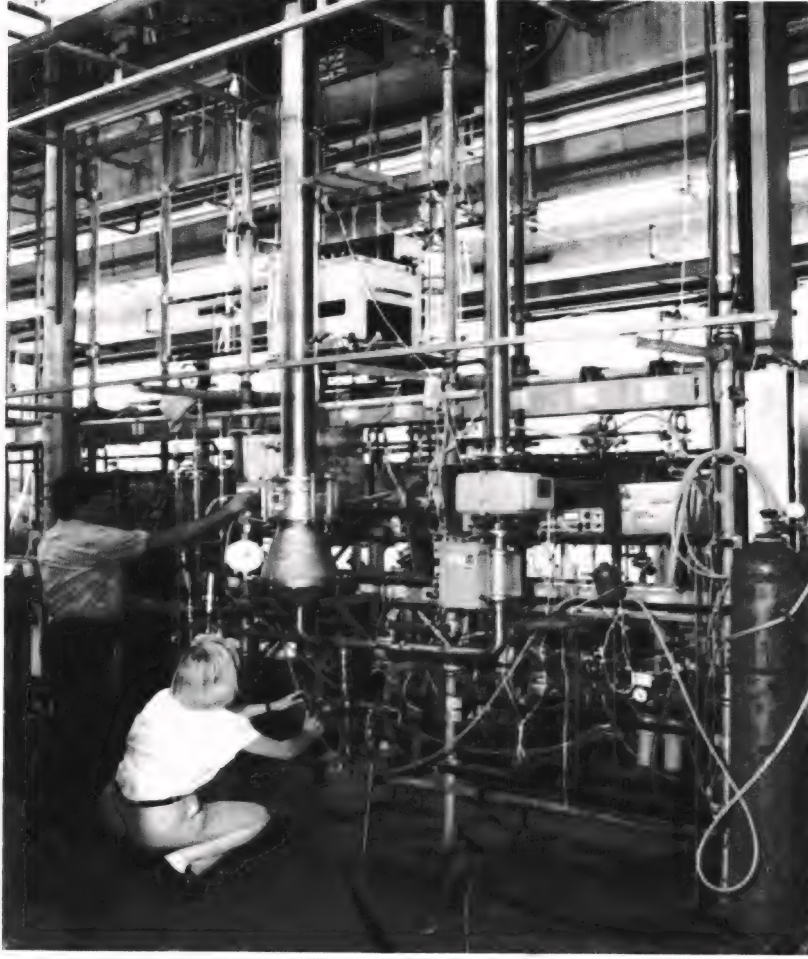


لوحة ملونة رقم (٤) : رسم
تخطيطي لعملية تعتيق البيرة
باستخدام مفاعل خلايا
الخميرة المسكنة (عن
(Lommi et al., 1990)
بينما توضح الصورة السفلى
وحداتي تخمر حجم الواحدة
١٠٠٠ لتر تستعمل في
صناعة البيرة بمعدل انتاجي
١٠ برميل / ساعة. (عن
(Lommi et al. 1990

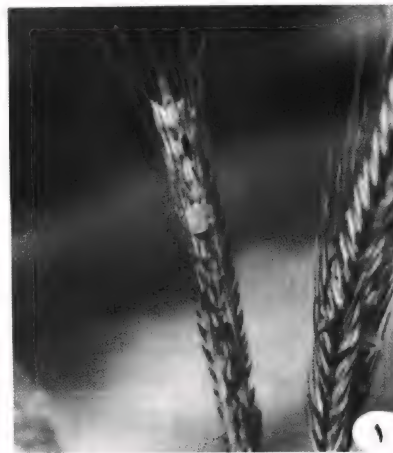




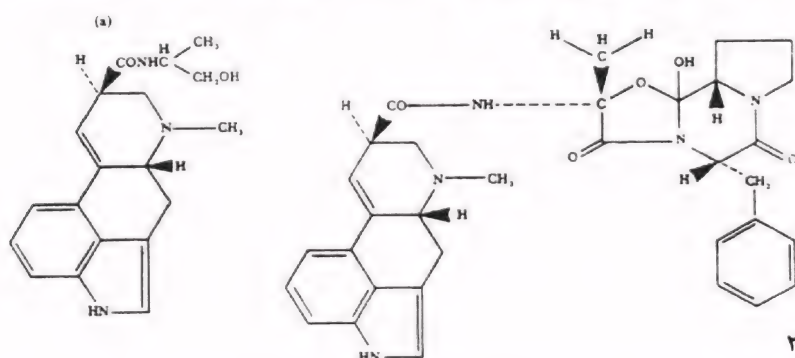
لوحة ملونة رقم (٥) : الإنتاج التجارى للبيرة (عن Lommi et al, 1990).
١ - وحدة أخذ العينات أثناء إنتاج البيرة بالخلايا المسكنة .
٢ - وحدة الطرد المركزي لإزالة خلايا الخميرة (الكتلة الحيوية) بعد المرحلة الأولى من التخمر أثناء إنتاج البيرة وقبل المعاملة الحيوية .



لوحة ملونة رقم (٦): وعاء تخمر برجي إرتفاعه عشرة أمتار يستعمل في الإنتاج التجريبي لبعض العقاقير الطبية. ويتصل بهذا الوعاء وحدات التحكم في ظروف التخمر.



(b)



لوحة ملونة رقم (٧) : سنابل شيلم مصابة بمرض الأرجوت Ergot .

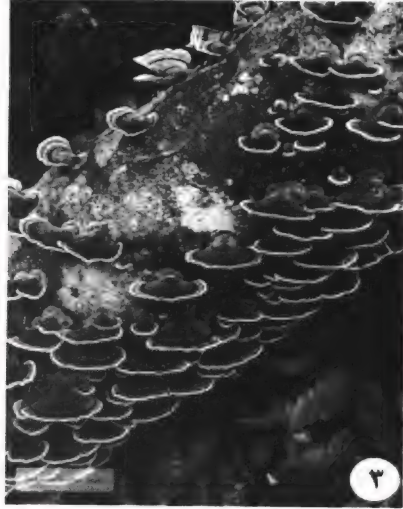
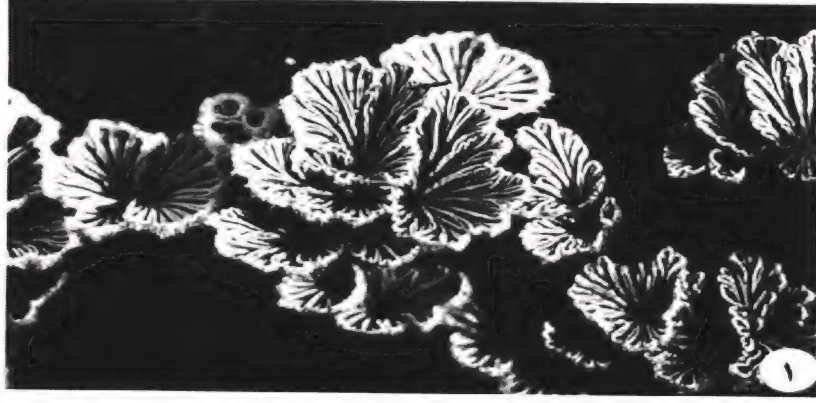
١- قطرات لزجة تظهر على سنبل شيلم في بداية مرحلة الإزهار.

٢- سنبل شيلم في مرحلة متقدمة من الإصابة تظهر عليها أجسام حجرية داكنة اللون، طويلة منحنية تأخذ شكل القرن.

٣- التركيب الكيميائي للمركبات الفعالة في فطر الأرجوت:

(a) = Ergometrine

(b) = Ergotamine

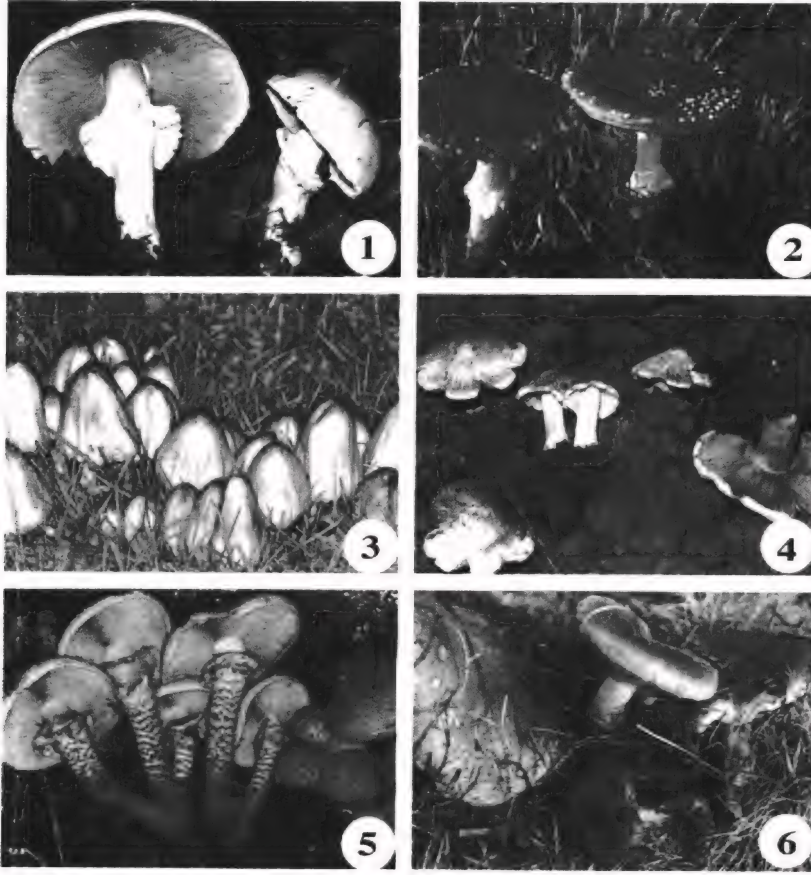


لوحة ملونة رقم (٨) : بعض أنواع فطريات عيش الغراب البرية.

١- فطر عيش الغراب المروحي *Schizophyllum commune*.

٢- فطر عيش غراب المورشيللا *Morchella*.

٣- فطر عيش الغراب الرقي Turkey-tail-bracket fungus.



لوحة ملونة رقم (٩): بعض أنواع فطريات عيش الغراب البرية

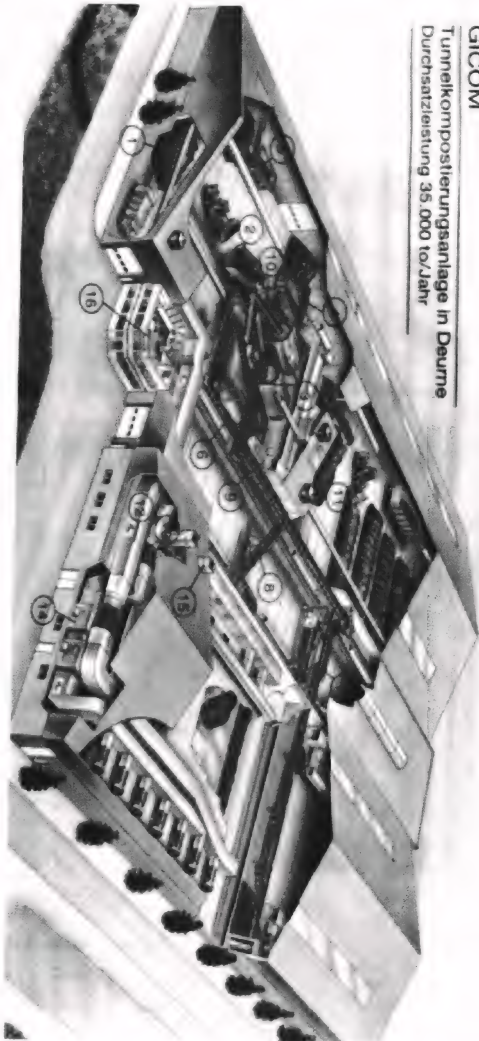
- | | |
|-----------------------------------|----------------------------------|
| (1) <i>Agaricus silvicola</i> | (2) <i>Amanita muscaria</i> |
| (3) <i>Coprinus atramentarius</i> | (4) <i>Inocybe patouillardii</i> |
| (5) <i>Pholiota squarrosa</i> | (6) <i>Paxillus involutus</i> |



لوحة ملونة رقم (١٠) : بعض الاستخدامات الصناعية للأنواع التابعة للجنس *Penicillium*.
A - مستحضر البتلسين من الفطر *P. chrysogenum*.
B - إنتاج الجبن الروكفور بواسطة الفطر *P. roquefortii*.

GICOM

Tunnelkompostierungsanlage in Deurne
Durchsatzleistung 35.000 t/Jahr



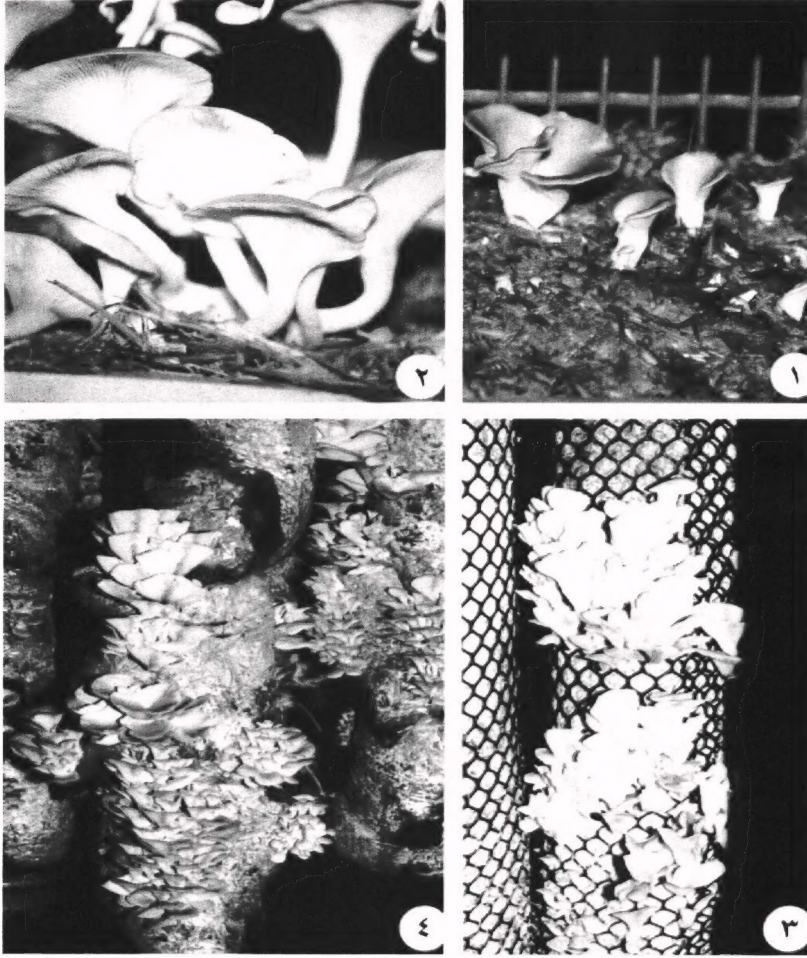
لوحة ملونة رقم (١١) : نموذج لمصنع إنتاج كومبوست (لزراعة عيش الغراب العادي) بطاقة قدرها ٣٥

ألف طن كومبوست سنوياً.

- ١- بوابة دخول المواد الخام.
- ٢- وحدة غربية.
- ٣- وحدة الطحن.
- ٤- نقارة يدوية.
- ٥- وحدة التعبئة الآلية.
- ٦- مخرج النهائي.
- ٧- وحدة التفريغ الآلية.
- ٨- فصل المخلفات.
- ٩- مكان لتخزين الكومبوست المجهز.
- ١٠- أبواب دفع الهواء النقي.
- ١١- مكان لتخزين المواد الخام.
- ١٢- مدخله خروج عوادم الغازات.
- ١٣- مداخل حراري لتسخين الهواء.
- ١٤- وحدة الأمن والمراقبة.
- ١٥- مرشح حيوي.



- لوحة ملونة رقم (١٢) : زراعة عيش الغراب العادي .
- ١- مزرعة عيش غراب عادي مزروع على أرفف وحوامل معدنية .
 - ٢- تجهيز الأرفف المعدنية وملأها بالكومبوست بعد تجهيزه .
 - ٣- إنتاج ثمار عيش الغراب ذات درجات نضج مختلفة (ثمار متفتحة) .



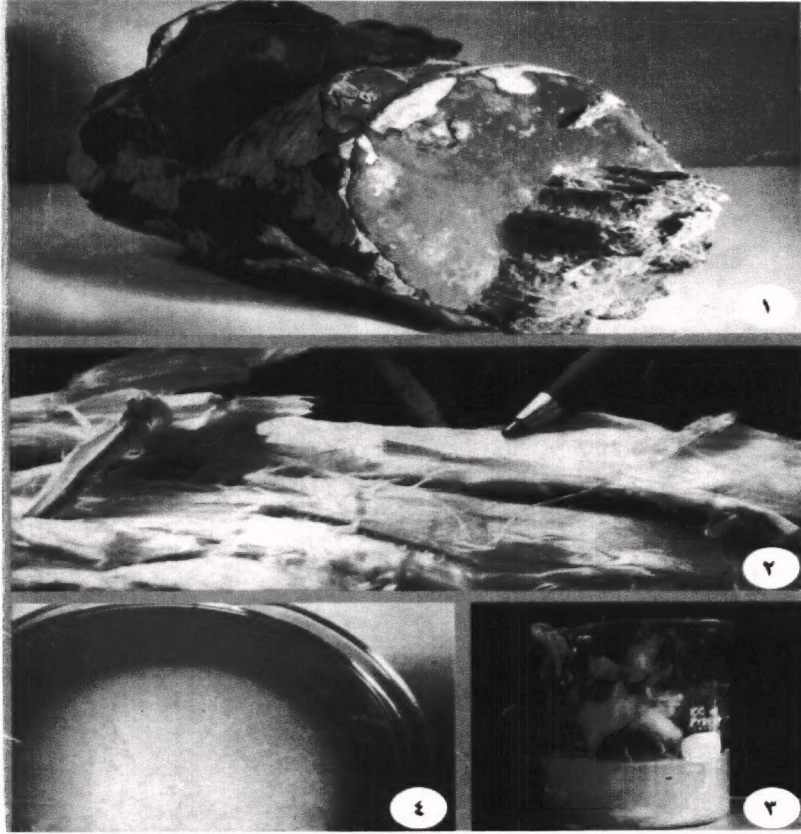
لوحة ملونة رقم (١٣) : زراعة عيش الغرباء الحار.

١ - مراحل مختلفة لتكوين الشمار.

٣ - الزراعة في أسطوانات مصنوعة من البلاستيك المقوى.

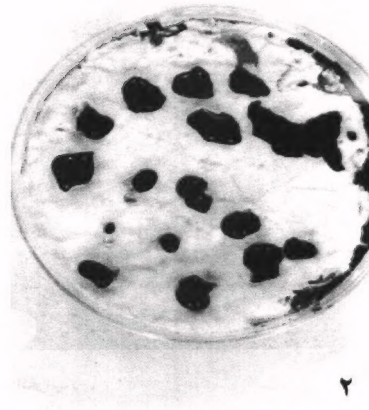
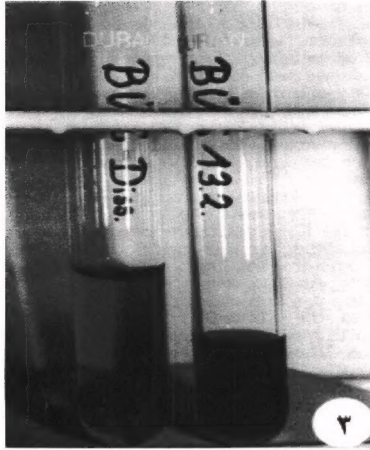
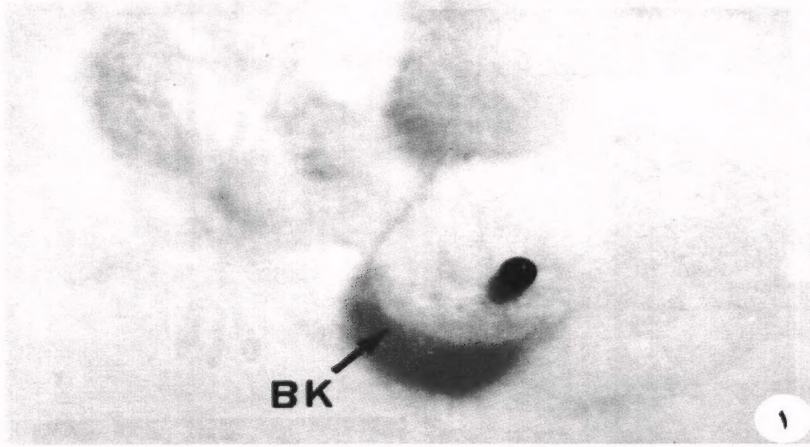
٢ - شمار ناضجة.

٤ - الزراعة في أكياس بلاستيك شفافة.

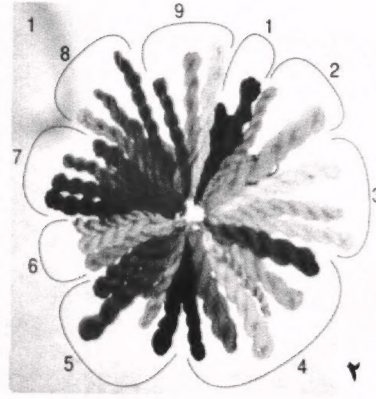


لوحة ملونة رقم (١٤)

- ١- تحليل اللجنين بفعل فطر العفن الأبيض التابع لعيش الغراب *Fomes fomentarius*. جسم ثمري للفطر نامياً على جزء من الخشب الذي تحلل وتلون باللون البني.
- ٢- عفن أبيض ناتج عن تحليل اللجنين بفعل الفطر *Ganoderma applanatum*.
- ٣- نمو الفطر السابق على بيئة الجلوكوز التي تحتوي على مصدر نيتروجيني محدد للنمو، ويوضح التغير من اللون الأحمر البنفسجي إلى اللون الأصفر النتيجة الايجابية للتحلل.
- ٤- كأس تحتوي على خشب خام بعد تمام تحلله بفعل الفطر السابق.



لوحة ملونة رقم (١٥) : الفطريات المسيلة للفحم. توضح الصورة العليا نمو هيفات الفطر *Phanerochaete chrysosporium* على كرة فحم (BK)، حيث تظهر قطيرة من الفحم السائل عليها. والصورة السفلى (٢) بعد فترة من التحضين وتكوين مزيد من قطيرات الفحم السائل، ويجوارها انابيب اختبار تحتوي على المترشح السائل بعد استكمال الفطر لتحليل الفحم (٣). (عن Fakoussa, 1992)



- لوحة ملونة رقم (١٦) : صبغات من فطريات عيش الغراب.
- ١- غلاف أحد المراجع العلمية التي تتناول موضوع صبغات عيش الغراب.
 - ٢- خيوط من الصوف مصبوغة ببعض صبغات فطريات عيش الغراب.
 - ٣- لوحة فنية تم صبغها بصبغات من ثمار عيش الغراب.
 - ٤- بلوفر تم صباغة خيوطه بصبغات من فطريات عيش الغراب.